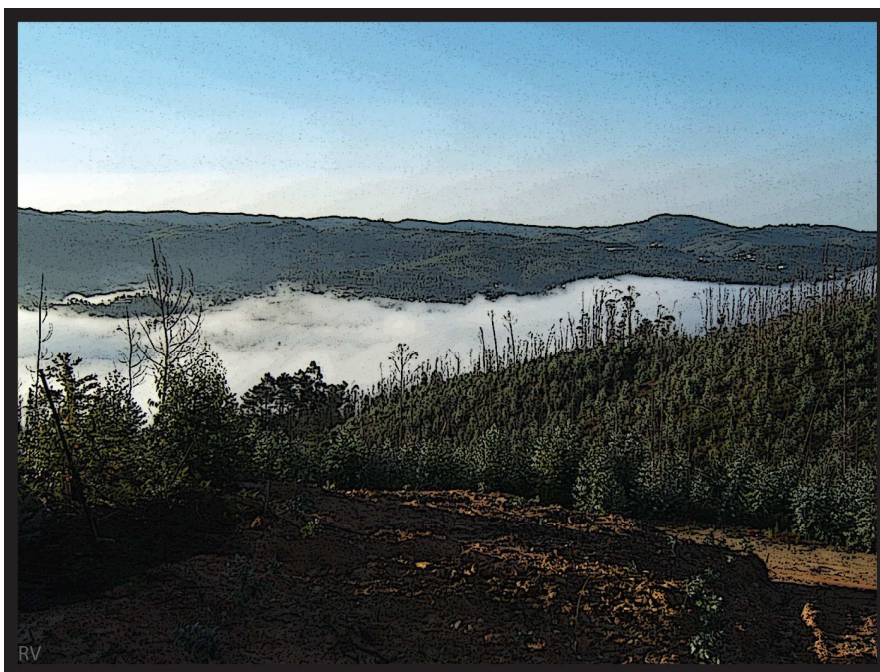




**Ana Rita Pessoa de
Figueiredo Vasques**

**Avaliação de técnicas para o estudo da composição
e viabilidade de bancos de sementes**



RV



**Ana Rita Pessoa de
Figueiredo Vasques**

**Avaliação de técnicas para o estudo da composição
e viabilidade de bancos de sementes**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ecologia, Biodiversidade e Gestão de Ecossistemas, realizada sob a orientação científica do Doutor Carlos Fonseca, Professor Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro e de Jan Jacob Keizer, PhD., Investigador Auxiliar do Centro de Estudos do Ambiente e do Mar (CESAM) da Universidade de Aveiro.

Dedico este trabalho, com enorme gratidão, aos meus pais, irmão e restantes familiares que sempre me apoiaram e incentivaram nas minhas escolhas.

o júri

presidente

Doutor Fernando José Mendes Gonçalves
Professor associado com agregação do Departamento de Biologia da
Universidade de Aveiro

vogais

Doutor Carlos Manuel Martins Santos Fonseca
Professor auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Doutora Maria Adelaide dos Santos Clemente
Investigadora do Banco de Sementes António Luís Belo Correia do Jardim
Botânico do Museu Nacional de História Natural

Jan Jacob Keizer, PhD.
Investigador auxiliar do Centro de Estudos do Ambiente e do Mar (CESAM) da
Universidade de Aveiro

agradecimentos

Gostaria de agradecer ao Doutor Carlos Fonseca, meu orientador científico, e a Jacob Keizer, PhD, meu co-orientador, pela dedicação, motivação e ajuda prestadas em todas as fases deste trabalho.

À minha colega Paula Maia por ter ajudado de forma tão relevante em todas as etapas do trabalho de campo e de laboratório, tendo sido o seu contributo fundamental para a realização deste trabalho.

À Dr.^a Rosa Pinho, pela sua disponibilidade e prontidão na ajuda prestada.

À minha colega Alexandra Pinheiro por me ter apoiado, aconselhado e ajudado e também por ter colaborado no trabalho de campo.

Ao Sérgio Alegre pela sua ajuda.

Ao Carlos Palma por me ter ajudado com as suas ideias e por ter manifestado o seu apoio e compreensão em todas as fases deste trabalho.

Ao Jorge Bandeira por ter ajudado na construção da estufa e por ter regado as plantas e registado as temperaturas.

Aos meus colegas do RAIZ pelo seu apoio.

À Prof.^a Doutora Carmo Magalhães, da Escola Superior Agrária de Coimbra, pela sua cortesia no empréstimo da sonda e dos cores para o trabalho de campo.

À Diana Vieira, pela sua ajuda e paciência incansável.

À Isabel Fernandes pela sua disponibilidade.

A todos os meus amigos pelo apoio e pela força que me deram.

Quero deixar também o meu sincero agradecimento a todas as pessoas que de alguma forma me motivaram e apoiaram durante o decorrer deste trabalho, cujo contributo foi de especial relevância, apesar de os seus nomes não se encontrarem aqui referidos.

palavras-chave

Banco de sementes, observação directa, germinação, cobertura vegetal fogos florestais, gestão pós-incêndio.

resumo

O presente trabalho teve como principal objectivo a avaliação de técnicas para o estudo da composição e viabilidade de bancos de sementes em áreas florestais sujeitas a diferentes tipos de intervenção pós-fogo. Para tal, foi dividido em duas partes fundamentais: um estudo piloto e um estudo comparativo de duas áreas ardidas com diferentes tipos de intervenção após o fogo, uma lavrada e outra não intervencionada.

No estudo piloto pretendeu-se realizar uma primeira aproximação a várias metodologias de campo e de laboratório para avaliação da variabilidade local e determinação da densidade de sementes presentes no solo. Realizou-se igualmente uma pesquisa bibliográfica e uma pequena recolha de sementes de espécies presentes em áreas semelhantes à considerada neste estudo, procurando criar uma base de referência para a identificação das sementes observadas. O levantamento das características morfológicas das sementes realizado foi bastante útil na identificação das sementes permitindo, no entanto, realizar a identificação apenas através das famílias, devido à deterioração das sementes contidas no solo.

Através dos resultados obtidos, excluiu-se a utilização do método de flutuação que revelou ser bastante moroso e sujeito a erros e procedeu-se à concentração das sementes apenas através da crivagem do material. Tendo em conta a densidade de sementes observada, optou-se por amostrar os 3cm mais superficiais de solo após a separação da camada de manta morta ou de cinzas.

No estudo comparativo entre as duas áreas consideradas utilizou-se o método de observação directa e o método de germinação para avaliação das sementes presentes no solo.

A análise dos resultados mostrou que o número de sementes estimado, para as amostras na área não intervencionada, através do método de observação directa (4637 ± 4650 sem.m⁻²) foi superior ao número de emergências obtido através do método de germinação (927 ± 3134 sem.m⁻²).

No que respeita aos resultados observados para os dois tipos de gestão pós-incêndio, a área lavrada apresentou valores mais reduzidos de sementes, comparativamente à modalidade não intervencionada. Este resultado foi observado através dos dois métodos mas apenas apresentou diferenças estatisticamente significativas após a realização do teste de *Mann-Whitney* para os resultados do método de observação directa ($Z = -2.34$, $n = 18$, $p < 0.05$). Deste modo, os métodos directo e indirecto revelaram resultados distintos na comparação dos dois locais com diferentes tipos de intervenção após o fogo, o que reforça a ideia de que devem ser utilizados os dois métodos como complementares na avaliação do banco de sementes. Note-se ainda que ambos os métodos mostraram vantagens e desvantagens, salientando-se a morosidade na contagem e incerteza da viabilidade das sementes no método directo e a necessidade de espaço e de uma prolongada duração da experiência de germinação para identificação das plântulas emergentes, no método indirecto.

keywords

Seed bank, direct counting, germination, forest fires, soil cover.

Abstract

This work aims to evaluate some techniques to study viability and composition of soil seed banks in forest areas. Thus, it was divided into two fundamental parts: a preliminary study and a comparative study of two burnt areas with different types of post-fire intervention, one ploughed and another one with no intervention. The preliminary study aimed to achieve a first approach on various methods of field and laboratory evaluation of local variability and density of seeds in the soil. The identification of the most important seeds *taxa*, was accomplished after some literature review and by comparison with collected seeds of known species. The morphological characteristics survey was found very useful in identifying seeds, but has only allowed the identification of families, since the seeds in the soil were quite deteriorated. After the preliminary study, it was decided to exclude the flotation method that has proved to be inefficient. Sieving was chosen as a method to seed concentration. It was decided to collect samples of 3 cm over the soil surface after litter and ashes separation. To compare the two areas with different types of post-fire intervention it was used both the method of direct observation and the method of germination of seeds. The results showed that the estimated number of seeds, through the method of direct observation ($4637 \pm 4650 \text{ seeds.m}^{-2}$) was higher than the number of emergencies obtained by germination ($927 \pm 3134 \text{ seeds.m}^{-2}$), for the area with non-intervention. The ploughed area recorded the lowest number of seeds compared to the non-interventioned. This result was obtained by the two methods but has only showed statistically significant differences after the *Mann-Whitney* test with the results of the direct method ($Z = -2.34$, $n = 18$, $p < 0.05$). Therefore, the direct and indirect methods showed different results when comparing the two types of intervention after fire, which reinforces the idea that both methods should be used as complementary in assessing the seed bank. Both methods showed advantages and disadvantages, with emphasis in the time-consuming counting and uncertainty of the viability of the seeds in the direct method and the space and the prolonged duration of the experiment needed to identify the germination of seedlings emerging in the indirect method.

Índice

Índice de Figuras	iii
Índice de Tabelas	vii
1. Introdução	1
1.1. Enquadramento	1
1.2. Bancos de sementes	1
1.3. Objectivos.....	3
2. Área de estudo	5
3. Estudo piloto	7
3.1. Material e Métodos	7
3.1.1. Criação de uma base de referência de sementes.....	7
3.1.2. Selecção do delineamento experimental	8
3.1.3. Teste de metodologias de laboratório de apoio à observação directa.....	11
3.2. Resultados e Discussão	12
3.2.1. Criação de uma base de referência de sementes.....	12
3.2.2. Selecção do delineamento experimental	24
3.2.3. Teste de metodologias de laboratório de apoio à observação directa.....	28
4. Estudo comparativo de duas áreas: lavrada e não intervencionada.....	31
4.1. Material e Métodos	31
4.1.1. Procedimento experimental	31
4.1.2. Cobertura do solo e composição florística	34
4.1.3. Observação directa	35
4.1.4. Análise indirecta por germinação.....	36
4.2. Resultados e Discussão	39
4.2.1. Cobertura do solo e composição florística	39
4.2.2. Observação directa	44
4.2.3. Análise indirecta por germinação.....	49
5. Conclusões gerais	55
Referências	59

Índice de Figuras

Figura 1 – Localização da área de estudo.	5
Figura 2 – Limite da área ardida em Agosto de 2007 (Bernardes, 2008).	6
Figura 3 – Fotografia da área de estudo, realçando a área lavrada e não intervencionada após o fogo.	6
Figura 4 – Fotografias dos amostradores utilizados. Imagem da esquerda: sonda (esquerda) e core (direita) e imagens da direita: sonda (cimo) e core (baixo).	9
Figura 5 – Representação esquemática da amostragem de campo realizada no Estudo Piloto. Os números 1, 2 e 3 correspondem à Cota 1, Cota 2 e Cota 3, respectivamente.	10
Figura 6 – Frequência das diferentes espécies presentes nos três eucaliptais considerados, ardidos em diferentes anos (1995, 2004 e 2005) in Maia, 2006.	14
Figura 7 – Fotografia de espiguetas (esquerda) e semente (direita) de <i>Agrostis curtisii</i> Kerguelen. Cada divisão de escala corresponde a 1mm. Proveniência do material vegetal: Sever do Vouga.	15
Figura 8 – Fotografia de sementes de <i>Calluna vulgaris</i> (L.) Hull. Cada divisão de escala corresponde a 1mm. Proveniência das sementes: Almeirim.	16
Figura 9 – Fotografia de sementes imaturas de <i>Erica umbellata</i> L. Cada divisão da escala corresponde a 1mm. Proveniência das sementes: Almeirim.	17
Figura 10 – Fotografia de sementes de <i>Eucalyptus globulus</i> Labill. Cada divisão da escala corresponde a 1mm. Proveniência das sementes: Sever do Vouga.	20
Figura 11 – Fotografia de sementes de <i>Pterospartum tridentatum</i> (L.) Willk. Cada divisão de escala corresponde a 1mm. Proveniência das sementes: Almeirim.	21
Figura 12 – Fotografia de sementes de <i>Ulex</i> L. sp. Cada divisão da escala corresponde a 1 mm. Proveniência das sementes: Almeirim.	22
Figura 13 – Fotografia de semente de <i>Simethis mattiazzii</i> (Vand.) Sacc. Cada divisão de escala corresponde a 1mm. Proveniência da semente: Sever do Vouga.	23
Figura 14 – Número total de frutos e sementes observados, de acordo com a identificação dos mesmos, para as três profundidades consideradas (0-2 cm, 2-4 cm e 4-6 cm).	25
Figura 15 – Número total de frutos e sementes observados nas amostras (0.5 g) a várias profundidades (0-2 cm, 2-4 cm e 4-6 cm) segundo o seu estado de conservação (<i>Carbonizado</i> e <i>Não carbonizado</i>).	26

Figura 16 – Número total de sementes e frutos observados no depósito e sobrenadante das soluções com as diferentes concentrações analisadas (água, 25g/l, 50g/l, 100g/l e 150g/l).	30
Figura 17 – Representação esquemática da amostragem de campo para comparação das modalidades <i>Lavrado</i> e <i>Não intervencionado</i> . A numeração vertical corresponde à designação da <i>Cota</i> (1,2,3,4 e 5) e a numeração horizontal à designação do Ponto de amostragem (I, II e III). As amostras recolhidas em cada ponto de amostragem designaram-se A, B e C.	33
Figura 18 – Fotografia da estufa de germinação.	37
Figura 19 – Esquema de disposição dos tabuleiros de germinação na estufa. Cada quadrado corresponde a uma caixa, representando-se por “C” as caixas de controlo.....	38
Figura 20 – Fotografia dos tabuleiros de germinação com as amostras.	39
Figura 21 – Fotografia exemplificativa do coberto do solo em dois pontos de amostragem das modalidades <i>Lavrado</i> (esquerda) e <i>Não intervencionado</i> (direita).	40
Figura 22 – Número médio e desvio-padrão de ocorrência das diferentes espécies no coberto vegetal nas duas modalidades (<i>Lavrado</i> e <i>Não intervencionado</i>) em três datas de amostragem (6-07-2008, 22-10-2008 e 12-11-2008).	41
Figura 23 – Número total de ocorrências das diferentes espécies na modalidade <i>Não intervencionado</i> , considerando os dois modos de regeneração observados (rebentação e germinação) nas três amostragens realizadas (6-07-2008, 20-10-2008 e 12-11-2008)... ..	43
Figura 24 – Frequência relativa do número de frutos e sementes presentes nas amostras de solo nas modalidades <i>Lavrado</i> e <i>Não intervencionado</i> em diferentes estados de conservação (<i>Vazio</i> , <i>Não carbonizado</i> e <i>Carbonizado</i>).	44
Figura 25 – Estimativa do número total de ocorrências das diferentes espécies nas amostras referente às duas modalidades consideradas (<i>Lavrado</i> e <i>Não intervencionado</i>).	46
Figura 26 – Porção de amostra observada em relação ao total e número total de sementes e frutos observados para as várias amostras de solo das modalidades <i>Lavrado</i> e <i>Não intervencionado</i> das 3 <i>Cotas</i> consideradas (1,3 e 5).	47
Figura 27 – Frequência relativa do número de sementes e frutos não carbonizados ou vazios encontradas nas fracções de cinzas e solo das várias amostras.	48
Figura 28 – Número médio e desvio-padrão de emergências verificadas nas amostras de solo colocadas a germinar entre 16.07.2008 e 6.11.2008. nas duas modalidades (<i>Lavrado</i> e <i>Não intervencionado</i>).	50

Figura 29 – Fotografias das plantas consideradas na análise designadas como Espécie 1, Espécie 2, Espécie 3, Espécie 4 (da esquerda para a direita e de cima para baixo).....	51
Figura 30 – Fotografia de <i>Conyza</i> Less. sp.....	51
Figura 31 – Número total de emergências das fracções de solo e cinza nas amostras modalidade <i>Não intervencionado</i>	52
Figura 32 – Média e desvio-padrão do número de sementes viáveis estimado nas modalidades <i>Lavrado</i> e <i>Não intervencionado</i> através do método de germinação e do método de observação directa nas amostras das <i>Cotas</i> 1, 3 e 5. A modalidade <i>Não intervencionado</i> inclui as amostras de cinzas.	53

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Peso das várias sub amostras antes da crivagem na modalidade <i>Não intervencionado</i>	27
Tabela 2 – Estimativa do número total de frutos e sementes presentes por metro quadrado nas <i>cotas</i> e profundidades consideradas.	28
Tabela 3 – Número total de sementes não carbonizadas ou vazias por m ² a 3 cm de profundidade, estimado para cada uma das amostras observadas na fracção de solo da modalidade <i>Não intervencionado</i> e o valor médio e desvio-padrão para cada <i>Cota</i> . Os valores apresentados foram arredondados à unidade.	49
Tabela 4 – Número de sementes por metro quadrado (sem.m ⁻²) em solos de ocupação florestal e incultos, obtido através de várias metodologias, segundo diferentes autores.	54

1.Introdução

1.1.Enquadramento

O presente trabalho é um estudo complementar ao programa de trabalhos, intitulado “Post-fire spatial vegetation recovery in central Portugal – Implications for land management”, da bolsa de Doutoramento de Paula Maia, atribuída pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (SFRH/BD/42168/2007), que tem como principal objectivo ampliar o conhecimento dos padrões de recuperação da vegetação espontânea após o fogo. Mais precisamente, o presente estudo pretende ser um contributo para a etapa do referido programa que visa estudar os efeitos de incêndios sobre a composição e viabilidade de bancos de sementes na superfície e nas camadas superiores do solo, procurando aprofundar o conhecimento de metodologias para avaliação de bancos de sementes e adquirir alguma experiência na sua utilização. Tendo em linha de conta o período de realização do presente estudo, antecedendo em boa parte o período de fogos florestais do Verão de 2008, a área de estudo seleccionada foi um povoamento florestal ardido no Verão do ano anterior. Na selecção do povoamento de estudo pretendeu-se dar continuidade ao trabalho desenvolvido pelo co-orientador, Jan Jacob Keizer, PhD., e pela Paula Maia, no âmbito dos projectos PHOENIX (POCI/AGR/58896/2004) e EROSFIRE (POCI/AGR/60354/2004), em pinhais e eucaliptais dos concelhos de Albergaria-a-Velha, Águeda e Sever do Vouga com distintos históricos de incêndio.

1.2. Bancos de sementes

Denomina-se banco de sementes ao reservatório viável de sementes existente no solo e manta morta (Leck *et al.*, 1989). As sementes que constituem este banco provêm da comunidade local, da vizinhança e de áreas distantes, através de variados processos de dispersão (Christoffoleti & Caetano, 1998). Esta dispersão inclui formas passivas, ejeção mecânica de sementes, fogo, vento, água e animais (Carvalho & Favoretto, 1995). A chegada das sementes aos locais

adequados para germinação e estabelecimento das plântulas é uma fase crítica no processo de dispersão, que é afectada não apenas por factores bióticos e abióticos, mas também pela morfologia das sementes e pelas suas respostas germinativas (Chambers & MacMahon, 1994). Por outro lado, o tempo de permanência das sementes no solo, após a sua deposição no banco de sementes, é determinado por factores fisiológicos e por factores ambientais, que influenciam a germinação, dormência e viabilidade das sementes (Garwood, 1989). Neste contexto, o banco de sementes pode ser transitório, com sementes de vida curta, que não apresentam dormência, germinando no mesmo ano em que são produzidas, ou persistente, com sementes dormentes que permanecem viáveis no solo por períodos de tempo mais alargados (Csontos & Tamás, 2003; Garwood, 1989; Thompson *et al.*, 1997; Valbuena & Trabaud, 2001).

A regeneração das espécies vegetais sujeitas a um incêndio pode dar-se através de duas vias principais, germinação e rebentação, existindo espécies que se podem regenerar de ambas as formas e outras que apenas se regeneram por germinação ou por rebentação (Pausas *et al.*, 2004). Nas espécies germinadoras as plantas presentes morrem como resultado da passagem do fogo e o restabelecimento de novas plantas produz-se a partir das sementes que sobreviveram à passagem do incêndio (Vallejo & Alloza, 2004), de acordo com as características das diferentes espécies (Clemente *et al.*, 2007). Os bancos de sementes, ao representarem reservas de potencial genético, têm uma importante função na manutenção da diversidade genética das comunidades e populações (Brown & Venable, 1986).

Existem vários métodos para determinar a presença e a quantidade de sementes presentes no solo, no entanto, os métodos utilizados mais frequentemente, são os métodos directo e indirecto. O método directo baseia-se na separação física das sementes das restantes partículas presentes no solo, baseado em diferenças de tamanho, forma e densidade, seguido da identificação e contagem das sementes. O método indirecto é realizado mediante a colocação de amostras de solo para germinar em locais apropriados, seguida da identificação das plantas emergidas (Thompson *et al.*, 1997). Para otimizar a utilização de ambos os métodos, pode recorrer-se a técnicas auxiliares. Como tal,

a crivagem permite a redução de volume das amostras de solo e a flutuação ou lavagem pode auxiliar na separação da porção de sedimento que contém as sementes (Thompson *et al.*, 1997).

O método directo normalmente sobrevaloriza o número de sementes presentes no solo uma vez que um grande número de sementes inviáveis ainda se encontra reconhecível (Thompson *et al.*, 1997). Uma vez que apenas as sementes viáveis devem ser consideradas na caracterização do banco de sementes são necessários testes auxiliares de viabilidade. Numa primeira abordagem, as sementes que apresentem evidências externas de estarem danificadas podem ser excluídas (Gross, 1990) e a sua viabilidade pode ser testada pressionando-as com uma agulha para perceber se o embrião se encontra aparentemente saudável (Heerdt *et al.*, 1996). No entanto, não é de descartar a utilização de métodos mais exigentes na determinação da viabilidade das sementes.

O método de germinação das sementes presentes no solo é de simples execução e tem a vantagem de uma maior facilidade na identificação das espécies. Além disso, este método fornece informação acerca da resposta das sementes presentes no solo após o fogo (Valbuena & Trabaud, 2001). Em contrapartida necessita de espaço numa estufa ou câmara de crescimento (Thompson *et al.*, 1997) e a disponibilidade de um período de tempo destinado à germinação e crescimento das plantas. Por outro lado, os resultados obtidos através deste método podem ser influenciados pela dormência das sementes já que, mesmo após a ocorrência de fogo, existem sementes que permanecem dormentes (Ferrandis *et al.*, 1999). Além disso, as plantas podem diferir em grande medida nos requisitos de germinação, o que torna difícil a determinação de condições propícias ao desenvolvimento de todas as espécies (Thompson *et al.*, 1997).

1.3. Objectivos

O presente trabalho tem como principal objectivo a avaliação de técnicas para o estudo da composição e viabilidade de bancos de sementes. A sua estrutura

divide-se em duas partes fundamentais, um estudo piloto e um estudo comparativo entre duas áreas com diferentes tipos de intervenção após o fogo.

No estudo piloto pretendeu-se avaliar várias metodologias, no campo e laboratório, para a análise do banco de sementes, procurando identificar a densidade de sementes, a variabilidade em profundidade e ao longo de uma encosta. Procurou-se igualmente criar uma pequena base de referência das sementes de espécies presentes em áreas próximas da área de estudo, com base numa pesquisa bibliográfica e na recolha de sementes no campo. Para tal, procurou-se caracterizar a morfologia e ecologia das sementes de espécies comuns em povoamentos de eucaliptal da região centro-norte de Portugal (Maia, 2006).

No estudo comparativo pretendeu-se realizar a avaliação de diferentes metodologias na análise do banco de sementes de duas áreas com distintos tipos de intervenção após o fogo. Deste modo, procurou-se analisar as vantagens e desvantagens da utilização dos métodos de avaliação por contagem directa das sementes presentes no solo e de germinação na comparação das duas áreas. De forma a complementar os resultados obtidos, realizou-se também o seguimento da composição florística nos locais estudados.

2. Área de estudo

A área de estudo fica situada na Região Mediterrânica, na província biogeográfica Luso-Estremadurense, no sector Beirense Litoral (Loca, 1987) e pertence ao estrato bioclimático Mesomediterrânico (Mor, 1997). Localiza-se na região centro-norte de Portugal Continental, no Distrito de Aveiro, Concelho de Sever do Vouga, Freguesia de Pessegueiro do Vouga (Fig. 1).

O solo da área de estudo é classificado como Leptossolo Úmbrico segundo a classificação de referência mundial para os recursos do solo, World Reference Base (WRB). O clima é temperado, húmido, com estação seca no Verão, o qual é moderadamente quente. Este tipo climático é caracteristicamente mediterrânico, com influência oceânica. A precipitação anual ponderada varia entre 745 mm e 2 334 mm, apresentando um valor médio de 1 387 mm (Plano Hidrológico da Bacia do Vouga, 2001).

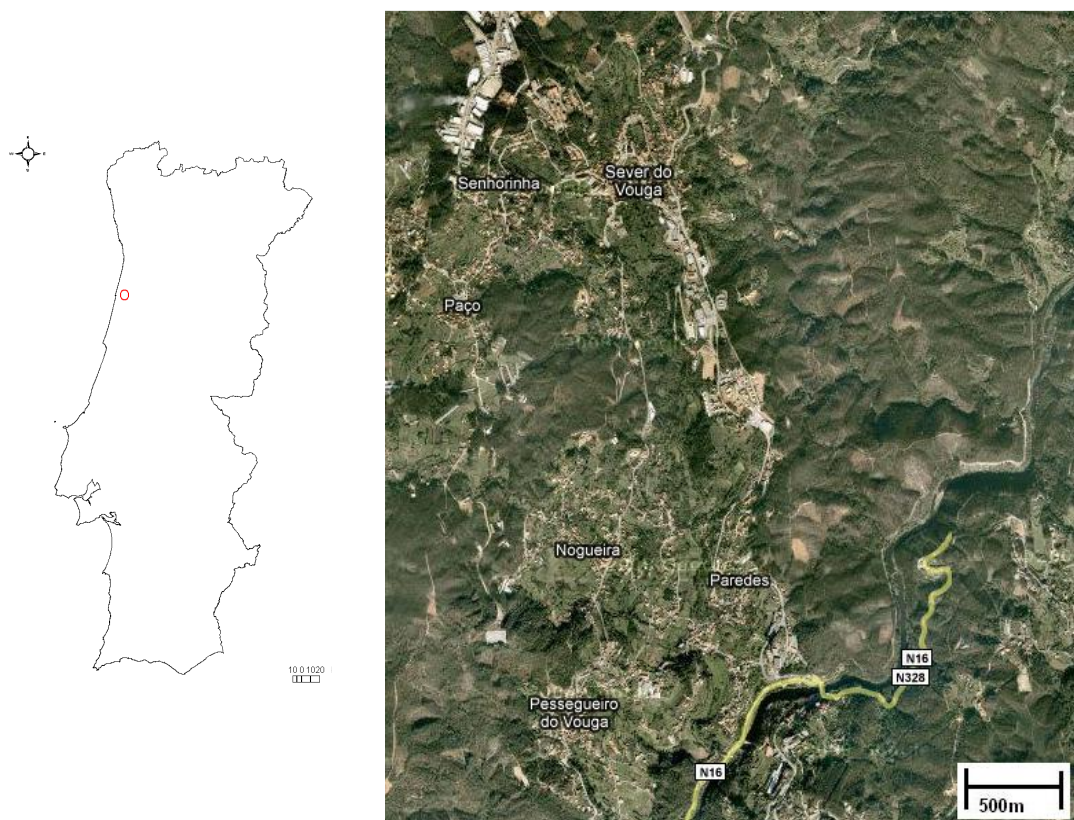


Figura 1 – Localização da área de estudo.

A zona envolvente à área de estudo é ocupada maioritariamente por povoamentos de eucalipto com diferentes tipos de gestão. Após o incêndio ocorrido nesta área em Agosto de 2007 (Fig.2), a área de estudo foi sujeita a diferentes tipos de intervenção, tendo sido uma parte lavrada para plantação de eucalipto e a outra parte, adjacente e com condições semelhantes de exposição e declive, deixada sem qualquer tipo de intervenção (Fig.3).

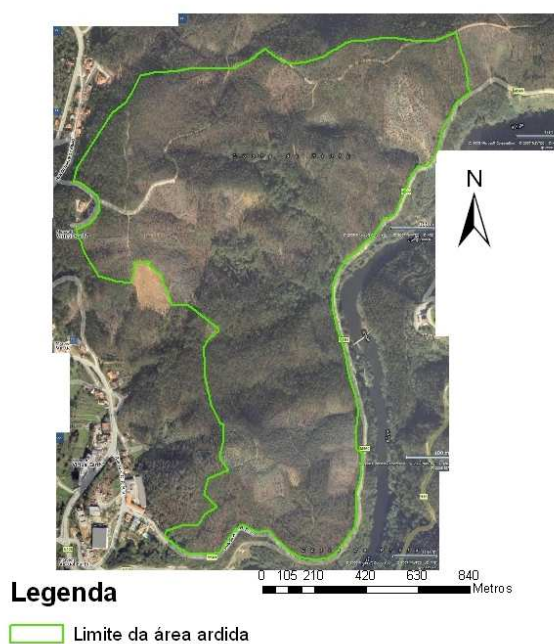


Figura 2 – Limite da área ardida em Agosto de 2007 (Bernardes, 2008).



Figura 3 – Fotografia da área de estudo, realçando a área lavrada e não intervencionada após o fogo.

3. Estudo piloto

A realização de um estudo piloto antes da realização de um estudo comparativo justificou-se pelo facto de não se conhecerem estudos realizados em eucaliptais ardidos que pudessem servir de enquadramento a este estudo.

Deste modo, procurou-se, por um lado, criar uma base de referência para a identificação de sementes e, por outro, avaliar metodologias de campo e de laboratório auxiliares à utilização dos métodos directo e indirecto.

Na selecção do delineamento experimental a adoptar no campo, testaram-se diferentes amostradores e analisaram-se camadas de solo com diferentes profundidades, avaliando o número de sementes nas diferentes camadas.

No laboratório, testou-se a eficácia do método de crivagem na concentração das sementes presentes para a homogeneização da amostra, diminuindo assim o tamanho da amostra para observação.

Pretendeu-se igualmente testar a eficácia de um método de flutuação do material numa solução de sacarose para a separação das sementes do sedimento, no sentido de compreender a relação da concentração utilizada com o material suspenso.

3.1. Material e Métodos

3.1.1. Criação de uma base de referência de sementes

Na identificação das sementes presentes nas amostras deste estudo, tiveram-se em consideração as características morfológicas das sementes de algumas espécies de referência. Estas espécies foram seleccionadas de acordo com a sua expressão no sub-bosque, em termos da sua frequência em eucaliptais da zona centro de Portugal. Para isso utilizaram-se dados de levantamentos da composição florística realizados em 3 locais da região centro norte do País, ardidos em diferentes anos, 1995, 2004 e 2005, em três freguesias dos concelhos de Águeda e Albergaria no âmbito do projecto PHOENIX (Maia, 2006).

Para tal seleccionaram-se as espécies com maior abundância, considerando o conjunto dos três locais. Após a selecção das espécies, recolheu-se informação bibliográfica para caracterização ecológica e morfológica das sementes, auxiliar à identificação das mesmas por observação directa. Recolheram-se igualmente sementes destas espécies no campo, servindo como exemplares de referência para fotografia e caracterização morfológica. Esta informação foi sendo complementada ao longo da realização do trabalho. Para além disso, realizou-se também a recolha no campo de sementes de outras espécies, para auxiliar à observação directa das amostras, que não foram aqui apresentadas.

3.1.2. Selecção do delineamento experimental

Realizou-se uma visita prévia à área de estudo, a 4 de Abril de 2008, para avaliação das condições do terreno e realização de uma amostragem experimental utilizando três tipos de amostrador distintos, sonda (1,5 cm de diâmetro), core (6 cm de diâmetro) e escavação com pá, procurando recolher uma área e volume de solo semelhante ao recolhido com o core.

A sonda (Fig.3) facilita a recolha do material uma vez que é de fácil manuseamento, permitindo também a separação de secções de solo a várias profundidades no campo, já que a abertura lateral que possui permite a visualização do perfil do solo. Este amostrador possui, no entanto, um diâmetro reduzido, o que limita a área de amostragem. Por outro lado, permite a recolha do solo a uma maior profundidade, relativamente aos outros dois métodos. O core (Fig.4) é um amostrador comum em recolhas de amostras do solo (Sutherland, 1996). Finalmente, o método de escavação, com o auxílio de uma pá, foi avaliado em termos de facilidade de recolha no campo comparativamente ao core, com vista à sua utilização em casos de necessidade de redução de custos ou de inacessibilidade do material.

Na escolha do amostrador foi avaliada a facilidade de recolha da amostra no campo e o volume recolhido, em função da concentração das sementes presentes



Figura 4 – Fotografias dos amostradores utilizados. Imagem da esquerda: sonda (esquerda) e core (direita) e imagens da direita: sonda (cima) e core (baixo).

Tendo em linha de conta que a densidade, composição e viabilidade das sementes pode variar com a profundidade (Bekker *et al.*, 2002; Bonis & Lepart, 1994; Gross, 1990) pretendeu-se avaliar as vantagens da aplicação de um delineamento experimental que permitisse observar essas diferenças. Para isso recolheu-se uma amostra com core de duas formas distintas: amostragem indiferenciada dos primeiros 6 cm da superfície do solo, para observação e utilização em experiências de concentração das amostras com crivagem e flutuação, e amostragem para posterior separação em laboratório das camadas de 0 a 2, 2 a 4 e 4 a 6 cm de profundidade. Para além disso recolheu-se uma amostra com o método de escavação e três amostras com sonda (Fig.5).

As partes da encosta com diferentes tipos de intervenção após o fogo foram tratadas como duas modalidades, *Lavrado* e *Não intervencionado*, correspondendo à parte da encosta que foi lavrada e não intervencionada, respectivamente. Na modalidade *Não intervencionado*, os pontos de amostragem situaram-se em 3 *cotas* de diferentes altitudes na encosta, denominando-se como *Cota 1*, *Cota 2* e *Cota 3* segundo a sua localização vertical na encosta, de baixo para cima (Fig.5). Dada a homogeneidade aparente da cobertura do solo e a inexistência de um perfil na modalidade *Lavrado*, optou-se por recolher, nesta área, apenas uma amostra em cada ponto de amostragem, com o auxílio de um core (Fig.5). As amostras foram colocadas em sacos de papel etiquetados à excepção de três amostras recolhidas com core na modalidade *Não intervencionado*, que foram transportadas para o laboratório dentro dos cores, para posterior divisão do solo por camadas de diferentes profundidades. Posteriormente, retirou-se o perfil de um core para cada uma das três *cotas* com o auxílio de um rolo graduado, separando as camadas de 0 a 2 cm, 2 a 4 cm e 4 a 6 cm de profundidade. Efectuou-se a pesagem de cada uma das camadas antes e após a crivagem, conservando a fracção do crivo entre 125 µm e 1 mm. Desta fracção retiraram-se em cada amostra 0.5 g para observação à lupa.

As amostras recolhidas de forma indiferenciada foram utilizadas em testes metodológicos de concentração e preparação de amostras para posterior observação à lupa e também na triagem prévia das sementes para familiarização com o aspecto das amostras e identificação das sementes no meio do sedimento.

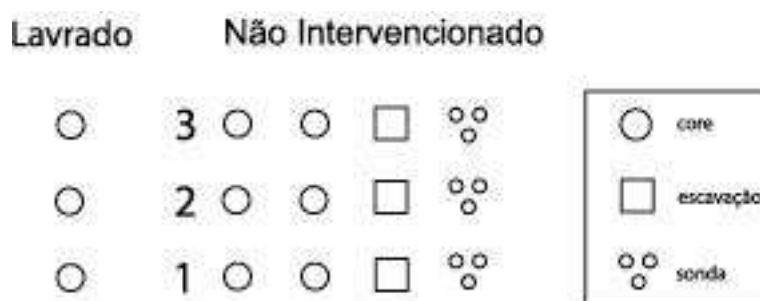


Figura 5 – Representação esquemática da amostragem de campo realizada no Estudo Piloto. Os números 1, 2 e 3 correspondem à *Cota 1*, *Cota 2* e *Cota 3*, respectivamente.

3.1.3. Teste de metodologias de laboratório de apoio à observação directa

No sentido de concentrar as amostras de solo, optou-se por testar os métodos de crivagem e flutuação, de modo a otimizar o esforço da observação à lupa e o espaço necessário para germinação do material (Gross, 1990). Assim, seleccionaram-se várias dimensões das malhas do crivo, observando as várias fracções de solo após crivagem. De modo a testar o método de flutuação, algumas amostras, já crivadas, foram ainda colocadas em soluções de sacarose de diferentes concentrações que correspondem a diferentes densidades do fluido, conduzindo à flutuação diferenciada das sementes (Gross, 1990). Na observação do material procurou-se separar os frutos e sementes de acordo com a sua identificação e com o seu estado de conservação (*Carbonizado e Não carbonizado*).

3.1.3.1. Crivagem

Para o teste do método de crivagem utilizou-se um crivo com malhas de dimensões de 125 μm , 250 μm , 500 μm e 1mm. Deste modo, e após realização de vários testes, observando diferentes fracções das várias amostras, optou-se por eliminar a fracção de partículas menores que 125 μm , uma vez que esta fracção não apresentava sementes, sendo constituída por partículas de dimensões muito reduzidas. A fracção de partículas com dimensões maiores que 1 mm também foi eliminada uma vez que se procurou detectar as sementes aí presentes a olho nu aquando da crivagem.

3.1.3.2. Flutuação após crivagem

Para teste do método de flutuação realizou-se a crivagem do material presente num core recolhido na Cota 3, eliminando as fracções do fundo (menor que 125 μm) e maior que 1 mm. Neste caso não foram consideradas camadas de diferentes profundidades. Utilizou-se o material crivado, procedendo à divisão da

amostra resultante em 7 partes com 6 g cada uma, para suspensão em soluções com diferentes concentrações de sacarose. Colocou-se o solo em copos de vidro, adicionando em seguida a respectiva solução a cada copo, água, 25g/l, 50g/l, 75g/l, 100g/l, 125g/l e 150g/l. Agitou-se a mistura e aguardou-se uma hora que as partículas menos densas que a solução ressuspendessem. Decantou-se o sobrenadante para filtros de café, recolhendo igualmente o depósito após verter a solução. Os filtros de café com as amostras foram deixados ao ar a secar durante uma semana. O material resultante de cada um dos métodos foi observado numa lupa binocular com ampliação 10x40, separando as sementes de outras partes orgânicas e minerais da amostra. Apenas foram observadas as fracções de água, 25g/l, 50g/l, 100g/l e 150g/l.

Para identificação e contagem das sementes realizou-se uma abordagem sistemática das partículas observadas com determinadas formas, identificando em seguida o material triado tendo como base as características morfológicas das sementes recolhidas no campo.

3.2. Resultados e Discussão

3.2.1. Criação de uma base de referência de sementes

Para criação de uma base de referência de sementes foram seleccionadas as espécies de plantas do sub-bosque mais abundantes nos eucaliptais da zona centro norte contempladas num estudo relativo ao projecto PHOENIX (Maia, 2006). Uma vez que estes locais arderam em diferentes anos, seriam esperadas diferentes abundâncias das várias espécies. Assim, e conforme é ilustrado pela figura 6, seleccionaram-se as espécies mais abundantes, considerando o conjunto dos três eucaliptais. Segundo este critério, seleccionou-se um total de 9 espécies: *Agrostis curtisii* Kerguelen, *Calluna vulgaris* (L.) Hull, *Erica ciliaris* L., *Erica cinerea* L., *Erica umbellata* L., *Eucalyptus globulus* Labill., *Pterospartum tridentatum* (L.) Willk., *Ulex micranthus* Lange. e *Simethis mattiazzii* (Vand.) Sacc. Procedeu-se à apresentação de uma síntese das características das espécies seleccionadas, sob a forma de fichas, apresentadas na continuação

dos resultados deste capítulo. Procurou-se descrever para cada espécie, sempre que possível, os nomes comuns (1), família (2), distribuição geral (3), hábito (4), época de floração (5), tipo de fruto (6), características morfológicas e de dispersão da semente (7) e estratégias de regeneração pós-fogo (8). Para descrição deste último item adoptou-se a classificação proposta por Paula & Pausas, 2008, tendo-se aplicado uma designação para a capacidade de rebentação (R^+ rebenta; R^- , não rebenta, *NA*, sem dados suficientes) e outra para a capacidade de germinação (S^+ germina; S^- , não germina; *NA*, sem dados suficientes) de acordo com as características das espécies consideradas.

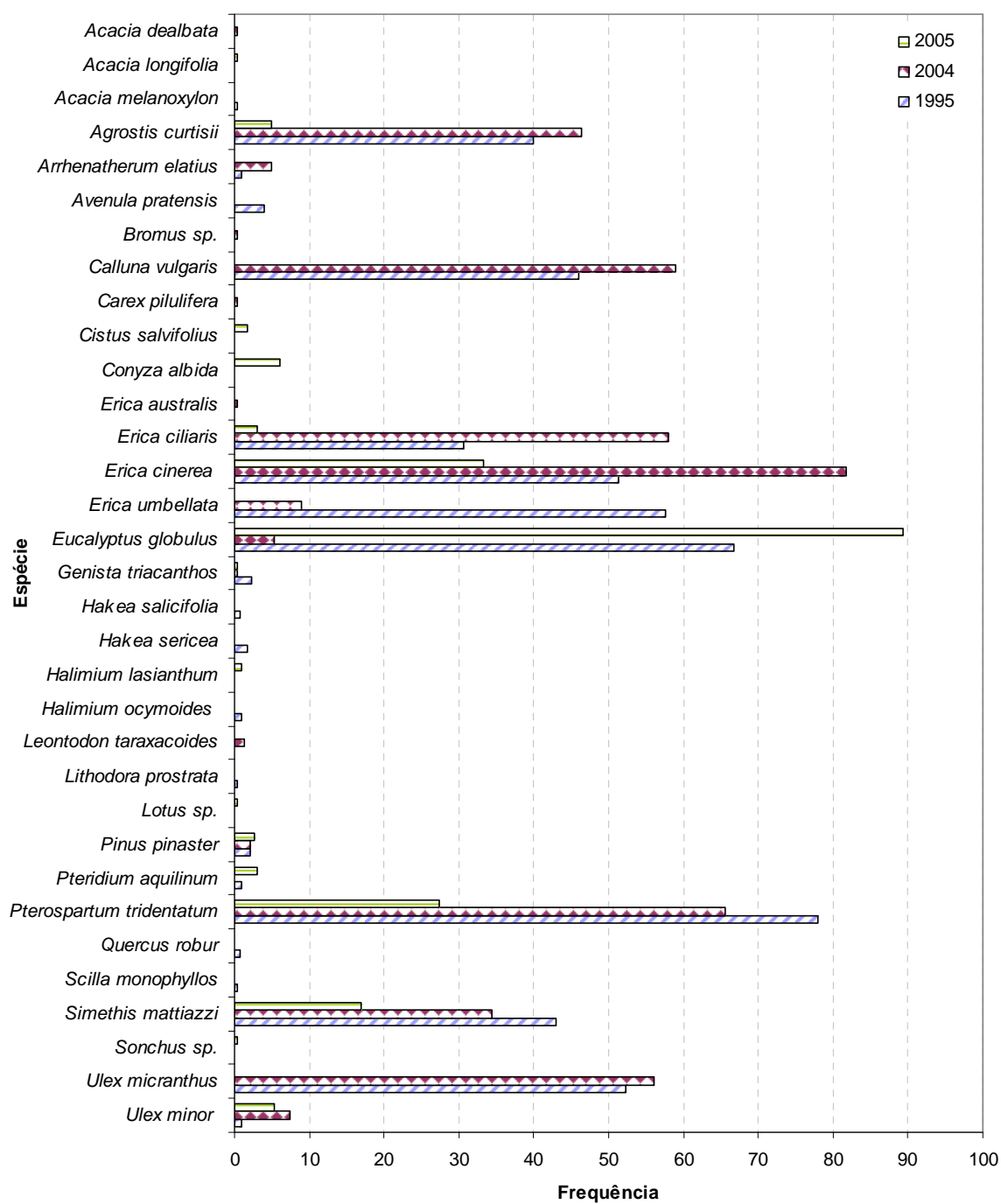


Figura 6 – Frequência das diferentes espécies presentes nos três eucaliptais considerados, ardidos em diferentes anos (1995, 2004 e 2005) in Maia, 2006.

***Agrostis curtisii* Kerguélen**



Figura 7 – Fotografia de espiguetas (esquerda) e semente (direita) de *Agrostis curtisii* Kerguélen. Cada divisão de escala corresponde a 1mm. Proveniência do material vegetal: Sever do Vouga.

1. Nomes comuns: erva-sapa e famanco.
2. Família: Graminae/Poaceae.
3. Distribuição geral: Sudoeste da Europa até ao Sul da Grã-Bretanha.
4. Hábito: erva
5. Época de floração: Verão.
6. Tipo de Fruto: cariopse.
7. Características morfológicas e de dispersão da semente: informação não encontrada.
8. Regeneração pós-fogo: R⁺ e S⁺ (Paula & Pausas, 2008).

Outras fontes: Biorede da Universidade de Aveiro in www.biorede.pt, Flora Digital de Portugal in http://www.jb.utad.pt/pt/herbario/cons_reg.asp; Flora iberica in <http://www.rjb.csic.es/floraib/Erica/>; Gonzalez, 1982 e Silva, 2007.

***Calluna vulgaris* (L.) Hull.**

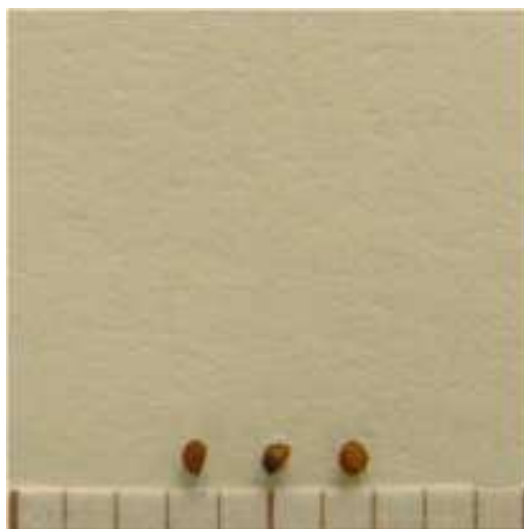


Figura 8 – Fotografia de sementes de *Calluna vulgaris* (L.) Hull. Cada divisão de escala corresponde a 1mm. Proveniência das sementes: Almeirim.

1. Nomes comuns: leiva, mongariça, queiró, torga, urze e urze-roxa.
2. Família: Ericaceae.
3. Distribuição geral: Europa e Noroeste de África (Marrocos e Mauritânia), tendo sido introduzida na América do Norte.
4. Hábito: subarbustivo ou arbusto baixo ramificado, geralmente com 20 a 100 cm de altura, com ramos finos ascendentes e ramosos.
5. Época de floração: Primavera ou Outono.
6. Tipo de Fruto: capsular, com 1 a 2.5 mm de comprimento, contendo até 10 sementes (Herrera, 1987).
7. Características morfológicas e de dispersão da semente: forma elipsóide, oblonga, oval ou circular com 0.55 a 0.65 mm de comprimento e 0.35 a 0.45 mm de largura. Hilo terminal constituído por um poro com diâmetro de 0.1 a 0.3 mm que distingue as sementes deste género das outras espécies da família Ericaceae (Fagundez, 2004). A ornamentação do tegumento é similar à de outras espécies do género *Erica* L. (Fagundez, 2004). Dispersão pelo vento (Herrera, 1987).
8. Estratégias de regeneração pós-fogo: R⁺ e NA (Paula & Pausas, 2008).

Outras fontes: Flora Digital de Portugal in http://www.jb.utad.pt/pt/herbario/cons_reg.asp; Flora iberica in <http://www.rjb.csic.es/floraibErica/>; Gonzalez, 1982; Nielsiv *et al.*, 2004; Rabanal & Casal, 1995 e Silva, 2007.

***Erica umbellata* L.**



Figura 9 – Fotografia de sementes imaturas de *Erica umbellata* L. Cada divisão da escala corresponde a 1mm. Proveniência das sementes: Almeirim.

1. Nomes comuns: queiró, queiroga e torga.
2. Família: Ericaceae.
3. Distribuição geral: Península ibérica e Noroeste de África.
4. Hábito: arbusto baixo.
5. Época de floração: Primavera e Verão.
6. Tipo de Fruto: cápsula globosa.
7. Características morfológicas e de dispersão da semente: Semente semelhante à de *Calluna vulgaris*.
8. Estratégias de regeneração pós-fogo: R⁻ e S⁺ (Paula & Pausas, 2008).

Outras fontes: Flora Digital de Portugal in http://www.jb.utad.pt/pt/herbario/cons_reg.asp; Flora iberica in <http://www.rjb.csic.es/floraibErica/>; Gonzalez, 1982 e Silva, 2007.

***Erica ciliaris* L.**

1. Nomes comuns: carapaça, cordões-de-freira, lameirinha e urze-carapaça.
2. Família: Ericaceae.
3. Distribuição geral: Oeste da Europa e Norte de África.
4. Hábito: arbusto baixo, erecto, raramente excedendo 0.5 m; com ramos lenhosos, ramificados. Os ramos jovens com casca castanho-avermelhada e pubescentes.
5. Época de floração: Primavera e Inverno.
6. Tipo de Fruto: cápsula globosa, glabra com até 3 mm de comprimento, podendo conter mais de 100 sementes (Herrera, 1987).
7. Características morfológicas e de dispersão da semente: forma da semente semelhante à de *Calluna vulgaris* . Dispersão pelo vento (Herrera, 1987).
8. Estratégias de regeneração pós-fogo: R⁺ e S⁺ (Paula & Pausas, 2008).

Outras fontes: Flora Digital de Portugal in http://www.jb.utad.pt/pt/herbario/cons_reg.asp; Flora iberica in <http://www.rjb.csic.es/floraibErica/>; Gonzalez, 1982 e Silva, 2007.

***Erica cinerea* L.**

1. Nomes comuns: negrela, queiró, queiroga e urze-roxa.
2. Família: Ericaceae.
3. Distribuição geral: Oeste e Centro da Europa, Córsega, Transilvânia e Macaronésia (Madeira).
4. Hábito: arbusto baixo, erecto, raramente excedendo 0.5 m, com ramos lenhosos, ramificados. Os ramos jovens com casca castanho-acinzentada e pubescentes.
5. Época de floração: Primavera e Outono.
6. Tipo de Fruto: cápsula subglobosa, glabra.
7. Características morfológicas e de dispersão da semente: forma da semente semelhante à de *Calluna vulgaris* . Dispersão pelo vento.
8. Estratégias de regeneração pós-fogo: informação não disponível.

Fontes: Flora Digital de Portugal in http://www.jb.utad.pt/pt/herbario/cons_reg.asp; Flora iberica in <http://www.rjb.csic.es/floraib/Erica/>; Gonzalez, 1982 e Silva, 2007.

***Eucalyptus globulus* Labill.**



Figura 10 – Fotografia de sementes de *Eucalyptus globulus* Labill. Cada divisão da escala corresponde a 1mm. Proveniência das sementes: Sever do Vouga.

1. Nome comum: eucalipto.
2. Família: Myrtaceae.
3. Distribuição geral: Originário da Tasmânia e Sudoeste Australiano e introduzido em várias zonas do mundo onde se tornou sub espontâneo.
4. Hábito: árvore.
5. Época de floração: Outono e Primavera.
6. Tipo de Fruto: cápsula lenhosa com 1.5 a 2.5 cm de diâmetro.
7. Semente: forma variável de redonda a alongada com faces rectas (Goes *et al.*, 1967)
8. Estratégias de regeneração pós-fogo: rebentação (R⁺) e semente (S⁺) (Macedo & Sardinha, 1993).

Outras fontes: Flora Digital de Portugal in http://www.jb.utad.pt/pt/herbario/cons_reg.asp.

***Pterospartum tridentatum* (L.) Willk.**



Figura 11 – Fotografia de sementes de *Pterospartum tridentatum* (L.) Willk. Cada divisão de escala corresponde a 1mm. Proveniência das sementes: Almeirim.

1. Nomes comuns: carqueja, senradela-amarela, senradela-brava, serradela, serradela-estreita, serrim e trevo-pé-de-pássaro.
2. Família: Leguminosae (Fabaceae).
3. Distribuição geral: Região Macaronésica e Mediterrânica (subespécie *lasianthum* (Spach) Talavera & Gibbs) e Península Ibérica e Norte de Marrocos (subespécie *cantabricum* (Spach) Talavera & Gibbs).
4. Hábito: arbusto baixo, até 1m, de folha persistente, prostrado ou erecto com ramos muito abundantes com duas asas onduladas, sub-coriáceas, contraídas em cada nó.
5. Época de floração: Primavera.
6. Tipo de Fruto: vagens oblongo-lineares com até 1.4 cm de comprimento.
7. Características morfológicas e de dispersão das sementes: forma arredondada com dimensões de 1.8 a 2.3 mm x 1.5 a 2.1 mm com arilo branco.
8. Estratégias de regeneração pós-fogo: R⁺ e S⁺ (Paula & Pausas, 2008). Germinação estimulada pelo fogo (Rivas *et al.*, 2006).

Outras fontes: Flora Digital de Portugal in http://www.jb.utad.pt/pt/herbario/cons_reg.asp; Flora iberica in <http://www.rjb.csic.es/floraib/Erica/>; Gonzalez, 1982 e Silva, 2007.

***Ulex micranthus* Lange.**



Figura 12 – Fotografia de sementes de *Ulex* L. sp. Cada divisão da escala corresponde a 1 mm. Proveniência das sementes: Almeirim.

1. Nome comum: tojo gatunho.
2. Família: Leguminosae.
3. Distribuição geral: Norte de Portugal e zona meridional da Galiza.
4. Hábito: arbusto baixo, verde, aberto, de até 1 m, ramos glabros ou com alguns pêlos curvos, patentes. Espinhos primários com até 1 cm, alternos, regularmente distribuídos, rígidos e geralmente arqueados, um pouco pilosos na base ou glabros: Espinhos secundários até 0.5 cm glabros, opostos ou sub opostos, dispostos na base dos primários, parecendo trifurcados no conjunto, não fasciculados.
5. Época de floração: Primavera.
6. Tipo de Fruto: vagem.
7. Características morfológicas e de dispersão da semente: forma ovóide com estrófilo (comum ao género *Ulex* L. sp.) com dimensões de 1.6 a 2 mm de comprimento e 1.2 a 1.6 mm de largura.
8. Estratégias de regeneração pós-fogo: informação não disponível.

Outras fontes: Flora Digital de Portugal in http://www.jb.utad.pt/pt/herbario/cons_reg.asp; Flora iberica in <http://www.rjb.csic.es/floraib/Erica/>; Gonzalez, 1982 e Silva, 2007.

***Simethis mattiazzi* (Vand.) Sacc.**



Figura 13 – Fotografia de semente de *Simethis mattiazzi* (Vand.) Sacc. Cada divisão de escala corresponde a 1mm. Proveniência da semente: Sever do Vouga.

1. Nomes comuns: craveiro-do-monte, cravo-do-monte e ouropeso.
2. Família: Asphodelaceae.
3. Distribuição geral: Sudoeste da Europa, estendendo-se para Sudoeste da Irlanda e Norte da Itália.
4. Hábito: erva.
5. Época de floração: Primavera.
6. Tipo de Fruto: cápsula.
7. Características morfológicas e de dispersão da semente: forma arredondada e dispersão desconhecida.
8. Estratégias de regeneração pós-fogo: informação não disponível.

Fontes: Biorede da Universidade de Aveiro in www.biorede.pt, Flora Digital de Portugal in http://www.jb.utad.pt/pt/herbario/cons_reg.asp e Gonzalez, 1982.

O levantamento das características morfológicas das sementes revelou-se bastante útil na separação visual das sementes do restante material orgânico e mineral encontrado nas amostras. No entanto, à excepção das sementes de eucalipto, apenas foi possível realizar a identificação com base nas famílias Graminae, Ericaceae e Leguminosae já que as características morfológicas das espécies pertencentes a estas famílias apresentam muitas semelhanças.

Note-se que as sementes que se encontram no solo se encontram normalmente deterioradas, com um aspecto baço, ou até mesmo carbonizadas, em virtude de se tratar de uma área ardida.

3.2.2. Selecção do delineamento experimental

O core foi o amostrador mais adequado para preencher os requisitos requeridos, uma vez que apresentou facilidade de recolha das amostras no campo e a possibilidade de recolha de um volume de amostra razoável (cerca de 170 cm^3 de solo a 6 cm de profundidade). Estes requisitos não foram satisfeitos nem com o método de escavação, que se mostrou muito moroso no campo, além da falta de precisão detectada no volume recolhido, nem com a sonda, uma vez que esta apenas permite a amostragem de uma pequena área da superfície do solo, comportando um volume muito reduzido ($10,6\text{ cm}^3$, a 6 cm de profundidade).

Analizou-se o número de sementes presente nas camadas de 0 a 2 cm, 2 a 4 cm e 4 a 6 cm de profundidade nas três cotas, incluindo a camada superficial de manta morta ou cinzas.

De forma geral é de salientar que se observaram sementes nos três estratos de profundidade, mostrando que se podem encontrar sementes, neste tipo de ecossistema até pelo menos 4 a 6 cm de profundidade. No entanto, uma vez que a camada superior (0 a 2 cm) apresentou mais frutos e sementes do que as outras duas camadas (Fig. 14), optou-se por seleccionar a profundidade de 0 a 3 cm para a amostragem principal, não descartando a possibilidade de existência de sementes viáveis em camadas mais profundas (Legg *et al.*, 1992).

As sementes de eucalipto e as sementes e frutos da família Ericaceae foram os que se observaram em maior abundância, em relação aos outros tipos de

sementes (Fig.14). No entanto, observou-se que a presença de uma grande quantidade de sementes de eucalipto tem ocorrência pontual na amostra de 0 a 2 cm de profundidade da *Cota 2*, o que poderá explicar-se pela possível ocorrência de cápsulas próximo ao ponto de amostragem.

Encontraram-se também nas amostras vários frutos que não foi possível identificar, tendo-se designado “Asa” aos únicos que se puderam agrupar de acordo com a semelhança das suas características morfológicas. Observaram-se também sementes desconhecidas, embora em número reduzido.

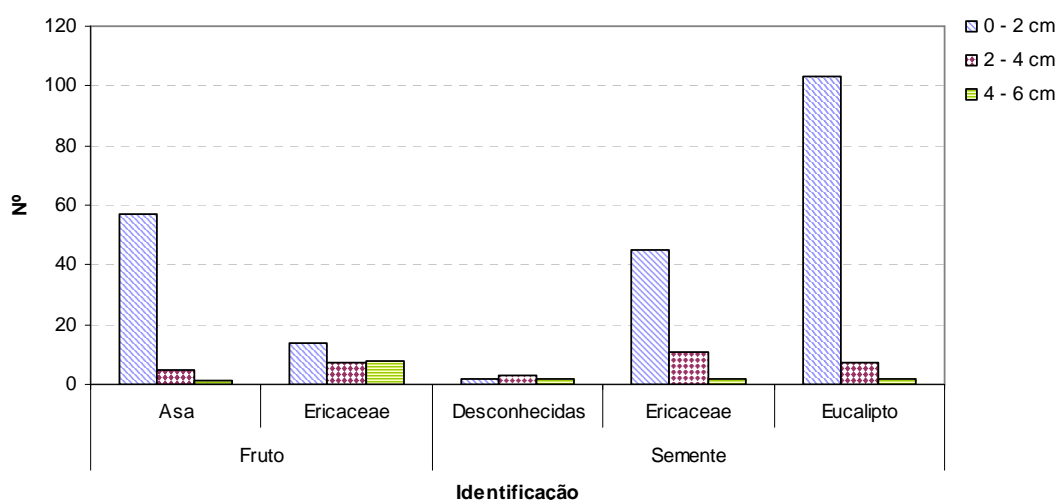


Figura 14 – Número total de frutos e sementes observados, de acordo com a identificação dos mesmos, para as três profundidades consideradas (0-2 cm, 2-4 cm e 4-6 cm).

Não foram encontrados frutos ou sementes nas três amostras (recolhidas a 6 cm de profundidade) da modalidade *Lavrado* observadas (0.5 g), o que pode ser indicador da presença de uma densidade de sementes muito baixa nesta modalidade. Consequentemente, e para limitar o esforço de observação, nomeadamente o tamanho (peso) das amostras separadas para observação directa, foi definido que para o estudo comparativo, o peso das amostras da modalidade *Lavrado*, seria limitado pelo peso das amostras da modalidade *Não intervencionado* observadas.

Através da observação da figura 15 constata-se que o número de sementes e frutos não carbonizados foi em geral superior ao número de carbonizados, sendo este resultado bem evidente nas camadas mais superficiais. No entanto, estes resultados são meramente ilustrativos dos diferentes estados de conservação em que as sementes podem ser encontradas numa área ardida. Para compreender a extensão dos danos causados nas camadas de diferentes profundidades poderia ser necessário recolher um elevado número de amostras. Por outro lado seria recomendável a realização da amostragem imediatamente após o fogo e a separação da camada superior de manta-morta/cinzas, de modo a minimizar o número de sementes que chegam à área amostrada depois do fogo.

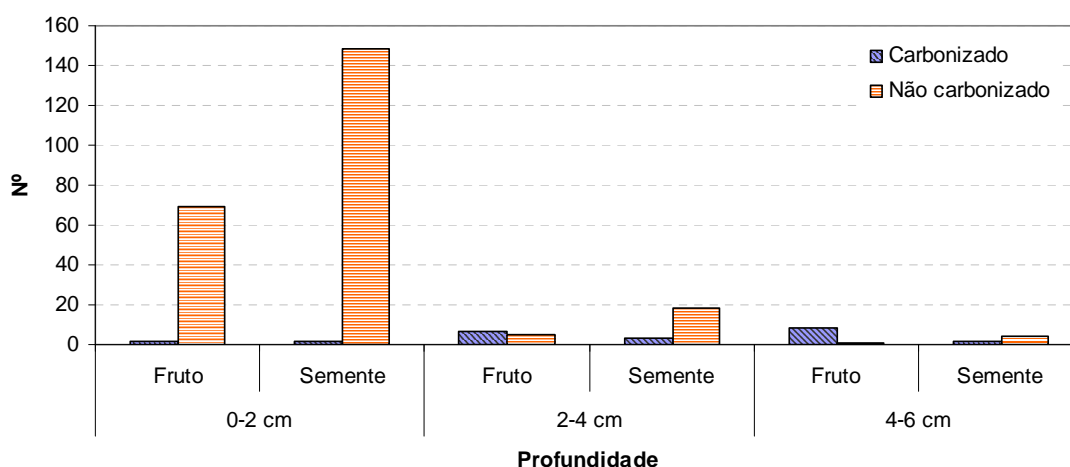


Figura 15 – Número total de frutos e sementes observados nas amostras (0.5 g) a várias profundidades (0-2 cm, 2-4 cm e 4-6 cm) segundo o seu estado de conservação (*Carbonizado* e *Não carbonizado*).

É de salientar também que, embora o volume recolhido nas várias amostras tenha sido semelhante, o peso das diferentes porções variou consideravelmente (Tab.1). Este facto pode ser devido às diferenças de densidade e composição do solo. Através da crivagem do material é possível reduzir a amplitude dos valores de peso das amostras, uma vez que as pedras são excluídas. Em estudos futuros poder-se-á considerar o número de sementes ou frutos estimando o número total presente no volume amostrado através do peso da sub amostra observada, relacionando-o com o peso total da amostra após crivagem. Esta relação assume

que não existem sementes nem frutos nas fracções excluídas do crivo e que a amostra é homogénea. Para tal o tempo de observação das diferentes amostras deverá ser estipulado, de modo a que o esforço de observação seja equivalente.

Tabela 1 – Peso das várias sub amostras antes da crivagem na modalidade *Não intervencionado*.

Profundidade	Cota 1	Cota 2	Cota 3
0 - 2 cm	3.8 g	3.1 g	7.5 g
2 - 4 cm	8.1 g	4.6 g	6.1 g
4 - 6 cm	9.4 g	8.2 g	2.6 g

O número total de frutos e sementes por metro quadrado com amostragem a 2 cm de profundidade foi estimado em 3 camadas de diferentes profundidades, para as 3 *cotas* da modalidade *Não intervencionado*, apresentando-se muito variável consoante a *Cota* e a profundidade (Tab.2). Deste modo, concluiu-se acerca da necessidade de um maior esforço de amostragem em cada ponto. Assim, optou-se pela recolha de três amostras, com core, em cada *Cota* na próxima amostragem de forma a avaliar a variabilidade presente. Para além disso, e resultante da variabilidade observada para a camada superior analisada (0-2 cm), optou-se por separar a camada superior de cinzas ou manta-morta da amostra do solo, uma vez que os efeitos do fogo e a entrada de sementes podem contribuir para o aumento da variabilidade local à superfície (Harper *et al.*, 1965; Eshel *et al.*, 1999).

Tabela 2 – Estimativa do número total de frutos e sementes presentes por metro quadrado nas cotas e profundidades consideradas.

Profundidade	Cota 1	Cota 2	Cota 3
0 – 2 cm	4598	72504	1061
2 – 4 cm	1768	9196	707
4 – 6 cm	1061	1415	2829

3.2.3. Teste de metodologias de laboratório de apoio à observação directa

3.2.3.1. Crivagem

O método de crivagem do material mostrou-se eficaz não só na separação das partículas de grandes dimensões (Gross, 1990; Mitchell *et al.*, 1998) mas também na homogeneização das amostras recolhidas. No entanto, a exclusão da fracção de partículas com mais de 1 mm revelou-se ineficiente, uma vez que a separação das sementes com dimensões maiores que esta de forma visual se revelou difícil, podendo levar à exclusão accidental de sementes ou frutos. Assim, optou-se pela utilização da malha de 2 mm para exclusão das partículas de maiores dimensões em estudos futuros.

3.2.3.2. Flutuação após crivagem

Conforme referido anteriormente, todas as sub-amostras analisadas no método de flutuação provinham de um mesmo core recolhido na Cota 2 a 6 cm de profundidade, cujo solo foi crivado e homogeneizado antes da sua divisão em sub-amostras, pelo que cada amostra deveria conter, no total, um número aproximado de frutos e sementes. No entanto, conforme se pode observar na figura 16, o número total de sementes e frutos variou muito. Este resultado pode

indicar perdas de sementes, que poderão ter ficado presas nas reentrâncias dos filtros ou em suspensão na solução após retirar o sobrenadante.

Apesar de não se terem encontrado sementes ou frutos no depósito da solução mais concentrada (150 g/l), para validar este resultado seria necessário repetir este teste com um número elevado de amostras. Por outro lado, a presença de grandes quantidades de partículas de solo no sobrenadante, juntamente com as sementes, tornou difícil a separação das sementes do restante material, exigindo uma observação demorada do material após flutuação.

Devido às desvantagens observadas, optou-se por excluir a utilização deste método no estudo comparativo.

O método de flutuação também se mostrou ineficiente noutros estudos de referência (Gross, 1990; Heerdt *et al.*, 1996; Thompson *et al.*, 1997). Segundo Thompson *et al.* (1997) o método de flutuação de sementes poderá ser adequado para estudar o banco de sementes de uma única espécie, não sendo adequada a sua utilização no estudo da composição de bancos de sementes, uma vez que a densidade das sementes varia de acordo com as espécies. Deste modo, para separar as sementes de todas as espécies presentes no solo seria necessário realizar a lavagem e suspensão sucessiva do material, resultando em perdas consideráveis de amostra (Gross, 1990). Heerdt *et al.* (1996) refere que o método de separação através de flutuação pode ser efectivo na concentração de sementes de grandes dimensões, revelando-se ineficaz para espécies com sementes pequenas e para tipos de solo que incluam muita matéria orgânica.

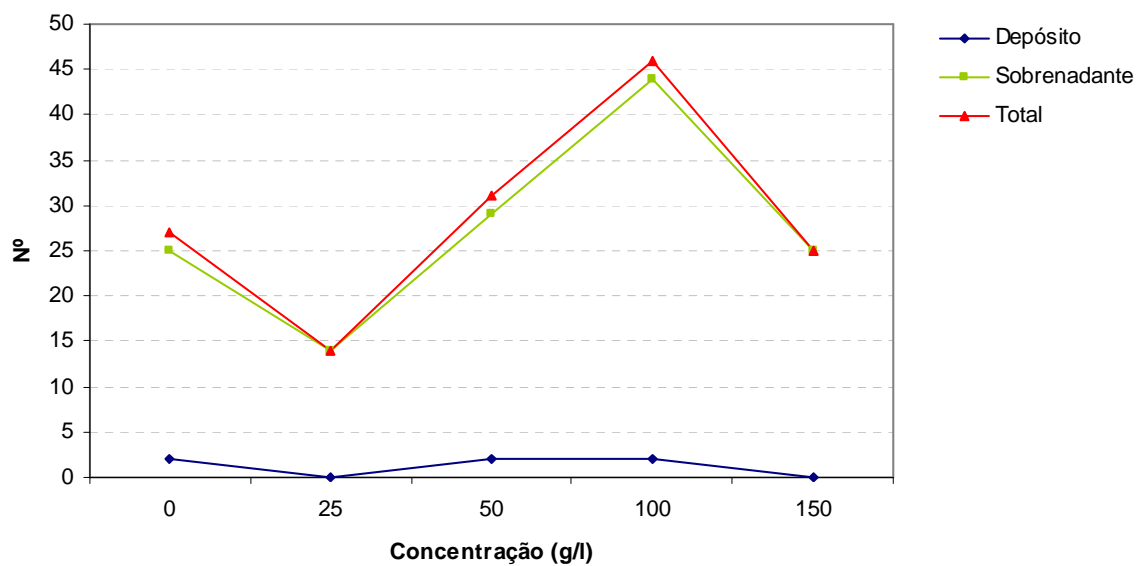


Figura 16 – Número total de sementes e frutos observados no depósito e sobrenadante das soluções com as diferentes concentrações analisadas (água, 25g/l, 50g/l, 100g/l e 150g/l).

No que respeita aos tipos de frutos e sementes observados no depósito e sobrenadante, a base de referência para identificação das sementes apenas permitiu auxiliar na identificação das sementes ou frutos de Ericaceae e eucalipto, não se tendo encontrado a referência que possibilitasse a identificação dos frutos designados “Asa”.

4. Estudo comparativo de duas áreas: lavrada e não intervencionada.

Após o estudo piloto, e de forma a testar e aprofundar os resultados obtidos no mesmo, procedeu-se à avaliação de técnicas para a comparação do banco de sementes de dois locais com diferentes tipos de intervenção após o fogo, uma área lavrada com outra não intervencionada. Consequentemente, e uma vez que a gradagem do solo poderá causar alterações na composição e estrutura do banco de sementes (Luzuriaga *et al.*, 2005), procurou-se comparar estas duas áreas em termos da composição florística, número de sementes e frutos presentes e espécies encontradas através dos métodos directo e indirecto.

4.1. Material e Métodos

Com base nos resultados obtidos no estudo piloto, e de forma a reduzir o esforço de amostragem, optou-se por recolher apenas a camada mais superficial do solo (0-3 cm) após separação da camada superficial de manta morta ou cinzas. No procedimento experimental, foi utilizada a crivagem a seco como método de concentração das sementes antes da observação directa e da germinação, excluindo o método de flutuação, em virtude de se ter revelado bastante moroso e impreciso.

4.1.1. Procedimento experimental

Optou-se por uma abordagem sistemática na recolha das amostras de solo (Díaz-Villa *et al.*, 2003) seleccionando 5 pontos equidistantes ao longo da encosta da área de estudo, designados *Cota*. Em cada *Cota*, seleccionaram-se 4 pontos de amostragem, ao longo de um transecto à curva de nível, separados 5 metros entre si. De entre os pontos de amostragem, 3 localizaram-se na modalidade *Não intervencionado* (I, II e III) e 1 na modalidade *Lavrado*. Optou-se por colocar apenas um ponto em cada transecto na modalidade *Lavrado* pois, conforme

referido anteriormente, a modalidade *Lavrado* apresentou-se muito homogénea em termos de cobertura do solo, parecendo ser igualmente homogénea em termos de composição de sementes.

Em cada ponto de amostragem colocou-se uma grelha de 50 por 50 cm dividida em 25 quadrículas iguais. Anotou-se a inclinação de cada ponto, com o auxílio de réguas e de um nível. Registaram-se igualmente os arbustos e árvores presentes num círculo com 2,5 m de raio para cada ponto de amostragem de forma poder futuramente compreender possíveis fontes de variabilidade provenientes de diferentes distâncias às árvores e arbustos queimados (Eshel *et al.*, 2000). Em cada ponto de amostragem foram recolhidas 3 amostras com core (área de 28,27 cm² a 3 cm de profundidade) de forma sistemática (Fig.17), pretendendo-se que estas amostras agrupadas fossem representativas da variabilidade a pequena escala, resultante da agregação da vegetação e da deposição aleatória de sementes, entre outros factores.

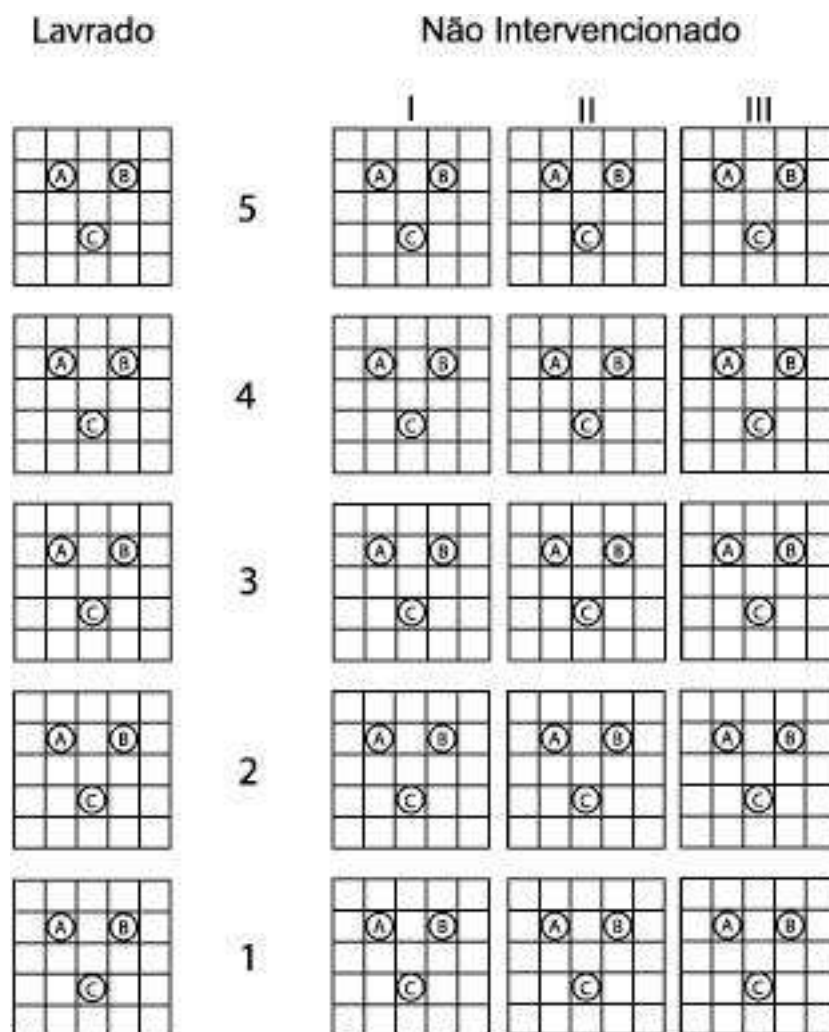


Figura 17 – Representação esquemática da amostragem de campo para comparação das modalidades *Lavrado* e *Não intervencionado*. A numeração vertical corresponde à designação da *Cota* (1,2,3,4 e 5) e a numeração horizontal à designação do Ponto de amostragem (I, II e III). As amostras recolhidas em cada ponto de amostragem designaram-se A, B e C.

Foi ainda registada a composição florística, tirando igualmente uma fotografia a todas as grelhas de amostragem para posterior caracterização do coberto do solo nas duas modalidades, uma vez que as diferentes condições locais, afectadas pela severidade do fogo e pela operação de gradagem, podem ser factores importantes na determinação da germinação das sementes presentes (De Luis *et al.*, 2005).

Aquando da recolha das amostras, foi delimitada a área de recolha, enterrando ligeiramente o core e recolhendo a camada de cinzas e manta morta para um

saco separado, antes da recolha da amostra de solo (Eshel *et al.*, 2000). Este procedimento foi adoptado para reduzir a variabilidade resultante da entrada de sementes e dos danos causados pelo fogo, já que se verificou uma elevada variabilidade nas amostras da camada superficial (0-2 cm) analisadas no estudo piloto.

As amostras de solo foram recolhidas com a profundidade de 3 cm e retiradas do core para sacos de papel devidamente identificados. Esta profundidade foi seleccionada após observação de um número superior de sementes ou frutos no estrato superior (0-2 cm) relativamente aos estratos inferiores (2-4 cm e 4-6 cm) em dois dos três pontos de amostragem analisados no estudo piloto.

No laboratório, as amostras foram pesadas e crivadas, separando para análise a fracção de partículas com dimensões entre 125 µm e 2 mm. É de salientar que, através dos resultados obtidos no estudo piloto, optou-se por incluir as partículas presentes na fracção da amostra com dimensões entre 1 e 2 mm, para salvaguardar a inclusão das sementes com estas dimensões.

Esta fracção foi pesada novamente, homogeneizada e dividida em duas partes, de peso equivalente, para serem submetidas aos dois métodos de avaliação do banco de sementes considerados, observação directa e análise indirecta por germinação.

4.1.2. Cobertura do solo e composição florística

Os levantamentos da composição florística e do coberto do solo foram realizados nos dias 6 de Julho, 22 de Outubro e 12 de Novembro do corrente ano. Deste modo, retirou-se uma fotografia a cada grelha de amostragem, para futura caracterização do coberto do solo. Em cada uma das datas de amostragem, registou-se igualmente o número de ocorrências das diferentes espécies de plantas presentes em cada quadrícula da grelha de amostragem, procurando distinguir o modo de regeneração das espécies presentes em germinação e rebentação.

As diferenças na composição florística entre as modalidades, *Lavrado* e *Não intervencionado*, e entre as estratégias de regeneração, germinação e

rebentação, foram analisadas através da aplicação do teste não paramétrico de *Mann-Whitney*, utilizando o programa *Statistica 6.0* (Statsoft).

4.1.3. Observação directa

Conforme referido anteriormente, após crivagem das amostras, reservou-se metade de cada amostra para observação à lupa binocular (10x40). Na observação das amostras para separação e identificação das sementes, teve-se o cuidado de criar finas camadas de solo de modo a poder observar a amostra sequencialmente e minimizar os erros (Heerdt *et al.*, 1996).

Observou-se uma amostra completa, verificando a sua homogeneidade, após o qual foi definido um limite de tempo para a observação de cada amostra. Deste modo, o esforço de observação das diferentes amostras foi equivalente. É de salientar que apenas foi possível observar parte das amostras recolhidas, tendo-se optado pela observação de todas as amostras recolhidas nos pontos de amostragem I das *Cotas* 1, 3 e 5, analisando, assim, igual número de amostras em ambas as modalidades. Além disso observaram-se ainda as amostras correspondentes à porção de manta morta ou cinzas das amostras da modalidade *Não intervencionado*, uma vez que a outra modalidade não apresentava esta camada.

Após a realização do estudo piloto definiu-se o procedimento de observação das amostras da modalidade *Lavrado*. Deste modo, limitou-se a observação da amostra a um peso semelhante ao segundo maior observado para a modalidade *Não intervencionado* (cerca de 8 g). As sementes e frutos encontrados foram triados e identificados segundo a espécie ou família a que pertencem, ou considerando um tipo morfológico quando não foi possível identificá-las. Registou-se igualmente o estado de conservação dos frutos e sementes observados, separando-os em *Vazio*, *Carbonizado* e *Não carbonizado*. É de salientar que, de entre as sementes e frutos cujo estado registado foi *Não carbonizado*, se encontraram sementes e frutos intactos ou partidos e viáveis ou inviáveis. Note-se também que a composição dos frutos em sementes não foi determinada, podendo

ser muito variável em termos de número de sementes, consoante a espécie a que pertence e o estado de conservação em que se encontra. Recomenda-se que em estudos futuros se adopte um procedimento de verificação do conteúdo dos frutos, de forma a que se possa obter uma estimativa mais precisa da composição do banco de sementes.

Na análise dos dados, foi calculado para cada amostra o número de sementes por metro quadrado (sem.m^{-2}). As diferenças do número de sementes não carbonizadas nem vazias entre as modalidades, *Lavrado* e *Não intervencionado* foram analisadas através da aplicação do teste não paramétrico de *Mann-Whitney*, utilizando o programa *Statistica 6.0* (*Statsoft*).

4.1.4. Análise indirecta por germinação

Após a divisão das amostras em duas partes equivalentes, metade de cada amostra foi colocada numa estufa de germinação (Fig.18), a 18 de Julho de 2008, em condições de temperatura e fotoperíodo semelhantes às verificadas no exterior, sendo regadas diariamente com água destilada. As amostras foram colocadas em pequenas caixas de alumínio com fundo furado, com 2 cm de substrato vegetal e vermiculite, previamente autoclavados (Sem & Enright, 1996), numa proporção de 1:1. Deste modo, procurou-se criar condições para que o subsolo providenciasse os nutrientes necessários ao crescimento das plantas de modo que não fosse necessário remover as plântulas logo após a germinação (Thompson *et al.*, 1997). No entanto, teve-se em consideração neste procedimento que as plantas devem ser retiradas o mais cedo possível para prevenir a competição pela luz com as novas plântulas (Thompson & Grime, 1979; Gross, 1990).

As amostras de solo foram colocadas na superfície das caixas, sobre a mistura de substrato vegetal e vermiculite, sendo dispostas numa camada fina (Fig.19). O período para emergência das sementes depende da espessura da camada de solo por cima do solo esterilizado, já que as sementes que estão por baixo não tendem a germinar uma vez que a quantidade de luz que chega às mesmas pode

ser demasiado baixa (Thompson *et al.*, 1997). Este aspecto foi tido em linha de conta com o intuito de promover a germinação do máximo de espécies possível.

As caixas com as amostras foram distribuídas de forma aleatória por tabuleiros, colocando três caixas de Controlo em cada tabuleiro (Fig. 19).

As amostras foram submetidas, algumas vezes ao longo do período de duração do ensaio, a encharcamento seguido de ausência de rega. Este procedimento foi adoptado com o intuito de estimular a germinação das sementes dormentes. Sabe-se que este não parece afectar a viabilidade das sementes de *Calluna vulgaris* (Pons, 1989), desconhecendo-se a sua influência nas restantes espécies. Sabe-se que as diferentes espécies têm diferentes requisitos, como por exemplo, diferentes necessidades de água (Heerdts *et al.*, 1999). Este facto pode condicionar a avaliação da contribuição de cada espécie para o banco de sementes através deste método. Por outro lado, a utilização deste método sem um tratamento pré-germinativo (Sutherland, 1996) subvaloriza as sementes viáveis que permanecem dormentes.



Figura 18 – Fotografia da estufa de germinação.

Na análise dos dados, foi calculada a média (e desvio-padrão) do número de sementes por metro quadrado (sem.m^{-2}). As diferenças do número de sementes não carbonizadas nem vazias entre as modalidades, *Lavrado* e *Não*

intervencionado foram analisadas através da aplicação do teste não paramétrico de *Mann-Whitney*, utilizando o programa *Statistica 6.0* (*Statsoft*).

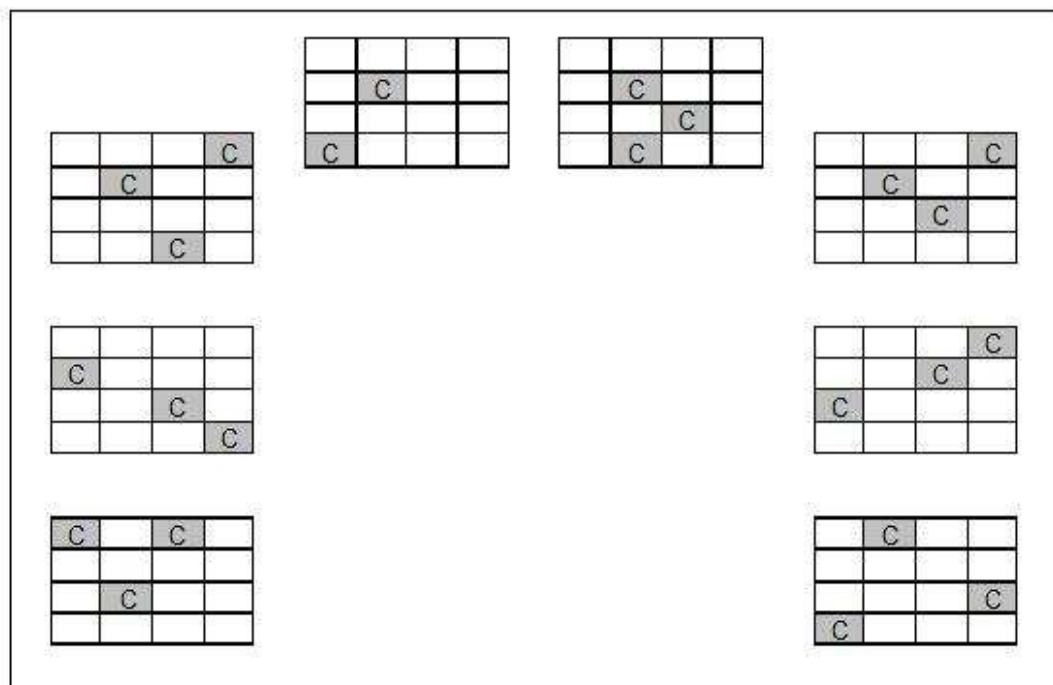


Figura 19 – Esquema de disposição dos tabuleiros de germinação na estufa. Cada quadrado corresponde a uma caixa, representando-se por “C” as caixas de controlo.

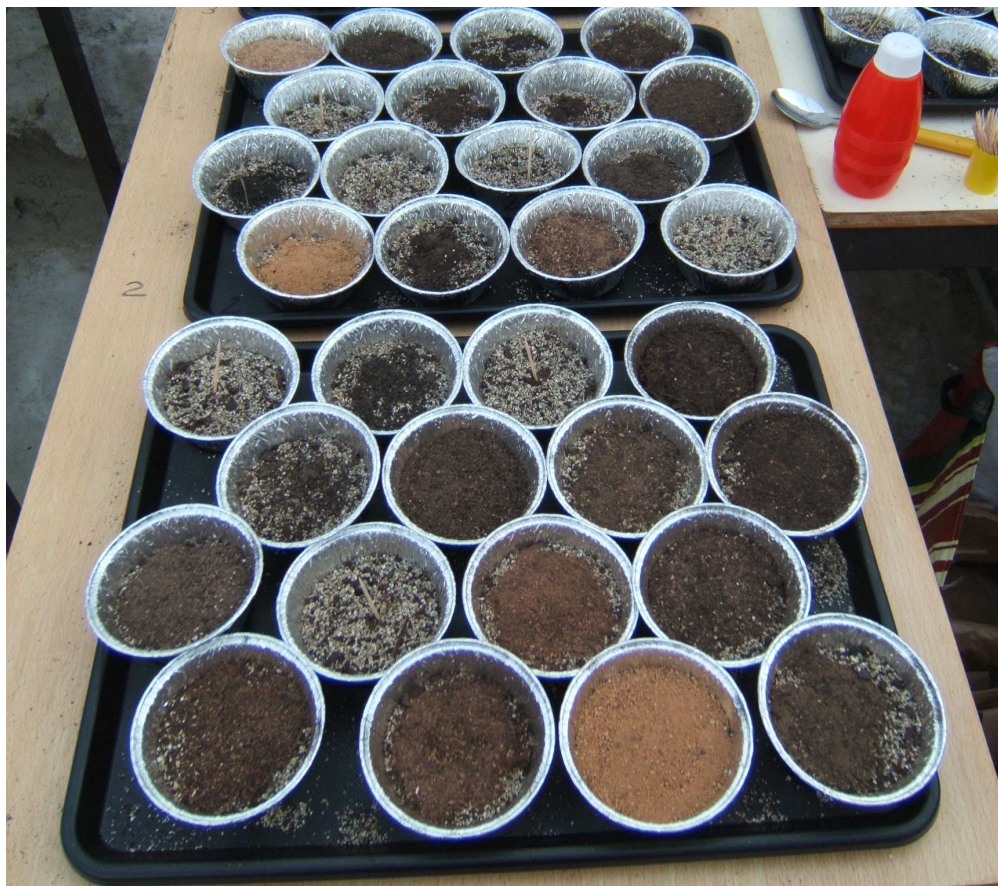


Figura 20 – Fotografia dos tabuleiros de germinação com as amostras.

4.2. Resultados e Discussão

4.2.1. Cobertura do solo e composição florística

Através das fotografias realizadas às grelhas de amostragem aquando das saídas de campo, foram observadas diferenças no coberto do solo entre as duas modalidades (Fig.21). Assim, e ao contrário do observado na modalidade *Não intervencionado*, praticamente não se observou cobertura de manta morta ou cinzas na modalidade *Lavrado*. Estas diferenças podem verificar-se através da análise das fotografias, sendo necessária uma grelha com unidades de dimensão mais reduzida para poder quantificar as diferenças entre os locais, através do registo da presença e ausência de material vegetal na superfície do solo.

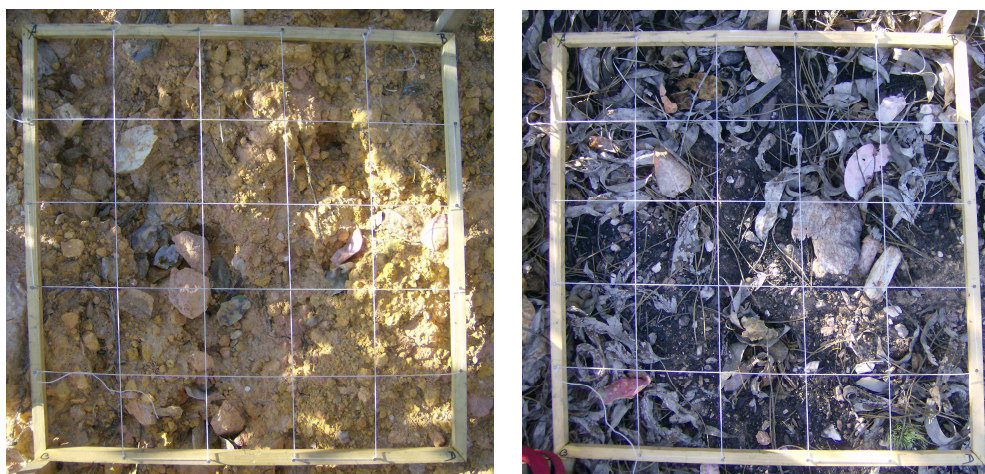


Figura 21 – Fotografia exemplificativa do coberto do solo em dois pontos de amostragem das modalidades *Lavrado* (esquerda) e *Não intervencionado* (direita).

É de salientar que as espécies encontradas na caracterização da composição florística dos pontos de amostragem foram semelhantes às espécies seleccionadas no estudo piloto, sendo 7 das 8 espécies encontradas coincidentes com as mesmas. A única espécie que não foi considerada no estudo piloto foi *Pinus pinaster* Aiton., espécie que possui uma semente facilmente reconhecível.

Com o auxílio do gráfico apresentado na figura 22, observou-se que a espécie que apresentou maior abundância na composição florística na primeira amostragem (6-07-2008) foi *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. Esta espécie, sendo um feto, reproduz-se por esporos, não se encontrando presente no banco de sementes. É de salientar também que nesta amostragem se encontraram em elevada abundância a espécie *Simethis mattiazzi* e o género *Ulex* sp.

Nas outras datas de amostragem (22-10-2008 e 12-11-2008), registou-se elevada abundância do género *Ulex* sp. nos pontos de amostragem. Observou-se ainda o aparecimento da Espécie 1 e da Espécie 4, que ainda não possuíam dimensões que permitissem a sua identificação, na última amostragem. De forma geral observaram-se diferenças acentuadas na composição florística entre as duas modalidades, sendo que na modalidade *Lavrado* apenas se encontraram fetos (*Pteridium aquilinum*), não tendo apresentado a ocorrência de espécies produtoras de sementes (Fig. 22).

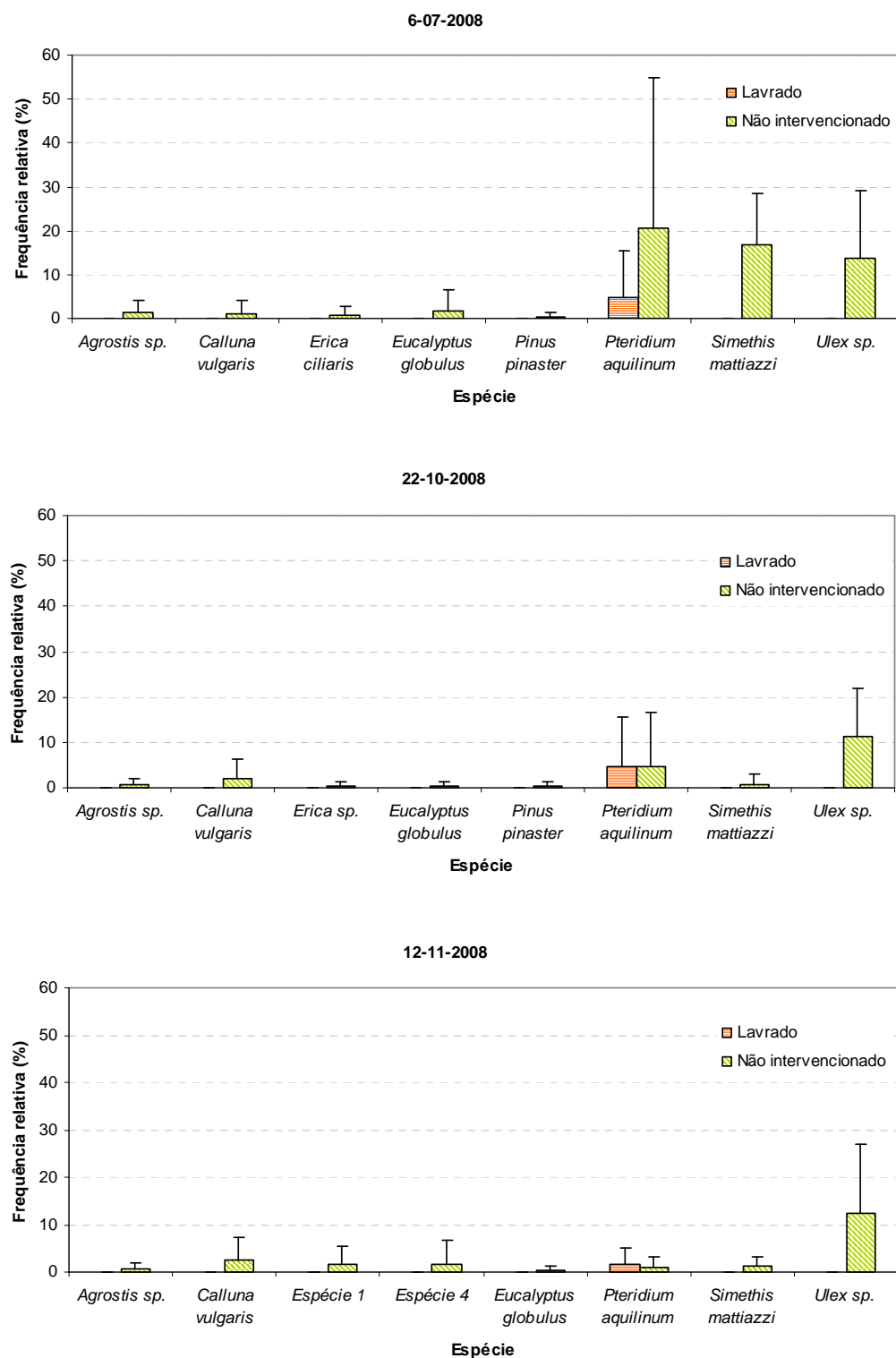


Figura 22 – Número médio e desvio-padrão de ocorrência das diferentes espécies no coberto vegetal nas duas modalidades (*Lavrado* e *Não intervencionado*) em três datas de amostragem (6-07-2008, 22-10-2008 e 12-11-2008).

O teste de *Mann-Whitney* para comparação das modalidades *Lavrado* e *Não intervencionado* revelou diferenças significativas para as três datas de amostragem, tendo revelado diferenças muito significativas na primeira data ($Z=3.14$, $n=20$, $p<0.01$) e significativas nas duas últimas ($Z=-2.36$, $n=20$, $p<0.05$). Este resultado deve-se provavelmente à diminuição da abundância de fetos ao longo do tempo, uma vez que na primeira amostragem a modalidade *Lavrado* apresentava fetos na sua composição florística, cuja abundância diminuiu, aumentando as diferenças entre as duas modalidades.

Na terceira amostragem observaram-se espécies que ainda se encontravam numa fase muito precoce do seu desenvolvimento, tendo-se designado como Espécie 1 e Espécie 4 por se tratarem das mesmas espécies encontradas nas amostras colocadas na estufa em germinação.

Observando os dados relativos ao tipo de regeneração das espécies após o fogo (Fig.23), observou-se que as espécies *Calluna vulgaris*, Espécie 1 e Espécie 4 apenas apresentaram regeneração por germinação, enquanto a espécie *Agrostis* L. sp. apresentou regeneração unicamente por rebentação. Considerando o conjunto de espécies observadas, verificou-se que a contribuição da germinação para a regeneração foi superior ao contributo da rebentação na regeneração do coberto vegetal.

O teste de *Mann-Whitney* não revelou diferenças significativas entre os dois tipos de regeneração, nem na primeira amostragem ($Z=-1.29$, $n=30$, *n.s.*) nem na segunda e terceira amostragens ($Z= 1.68$, $n=30$, *n.s.*).

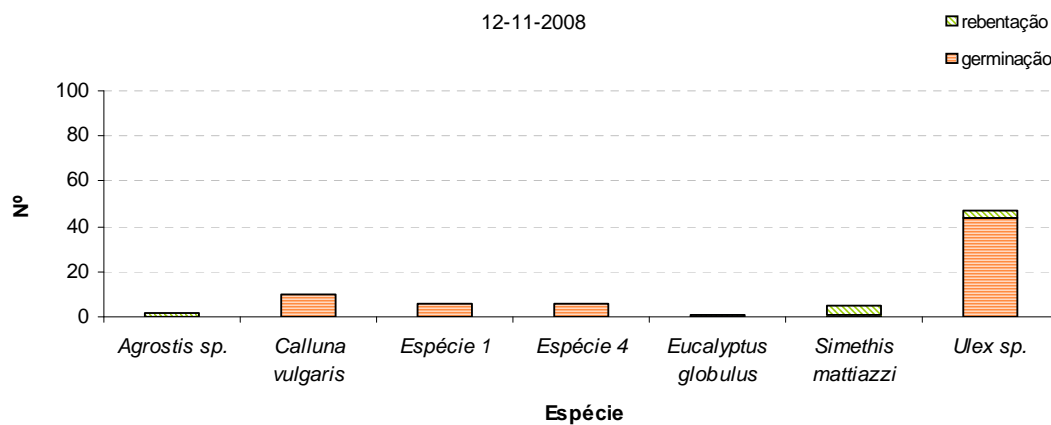
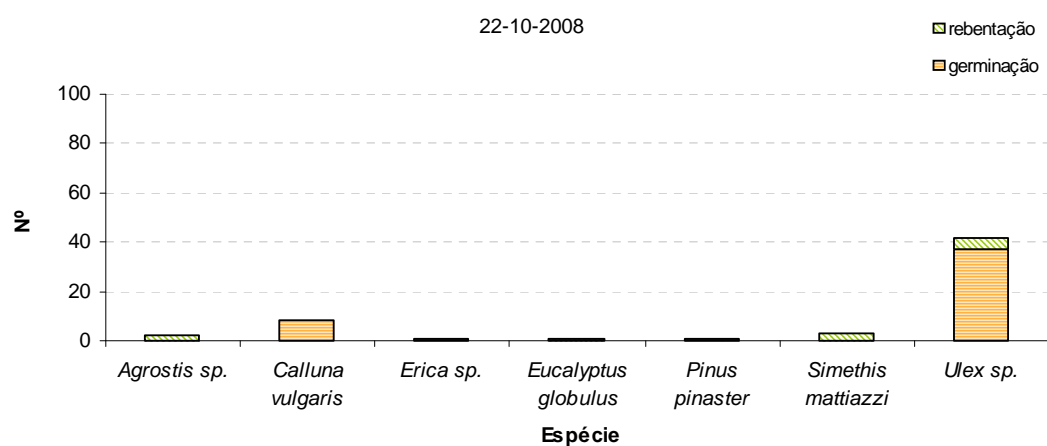
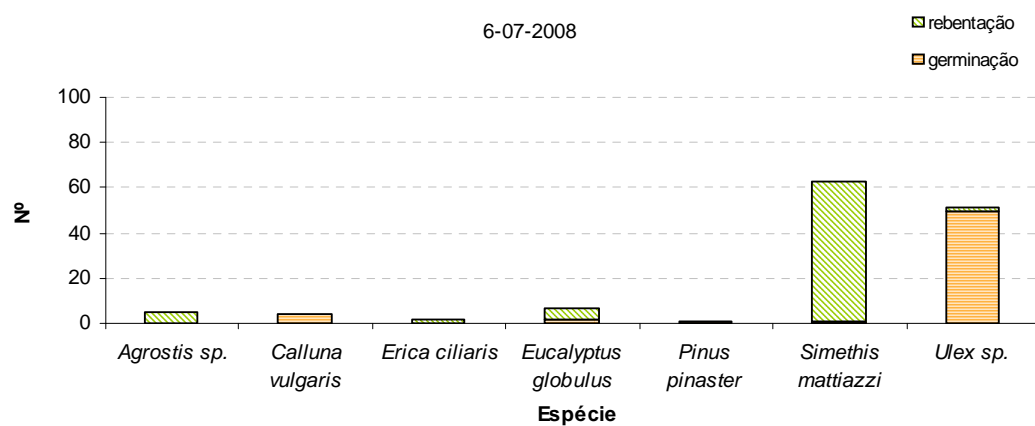


Figura 23 – Número total de ocorrências das diferentes espécies na modalidade *Não intervencionado*, considerando os dois modos de regeneração observados (rebentação e germinação) nas três amostragens realizadas (6-07-2008, 20-10-2008 e 12-11-2008).

4.2.2. Observação directa

Conforme foi referido anteriormente, este método pode sobrevalorizar o número de sementes viáveis presentes no solo, uma vez que grande parte das sementes pode não se encontrar viável. Assim, através da análise da figura 23, observou-se que grande parte das sementes e frutos observados em ambas as modalidades se encontravam carbonizados ou vazios. Esta porção representa entre 70 e 90% dos frutos, nas modalidades *Não intervencionado* e *Lavrado*, respectivamente, e cerca de 60% das sementes observadas em ambas as modalidades. Deste modo apenas 40% das sementes encontradas nos dois métodos se encontrava no estado *Não carbonizado*. Admite-se que os restantes frutos e sementes podem não se encontrar viáveis uma vez que, em muitas das sementes observadas, o tegumento apresentou um aspecto deteriorado, sendo um indicador de inviabilidade das mesmas (Fernandis *et al.*, 1999). Apesar disso, e não tendo recorrido a outros testes de viabilidade, consideraram-se todas as sementes não carbonizadas ou vazias na análise. Em estudos futuros é recomendável o aprofundamento e utilização de métodos complementares para a avaliação da viabilidade das sementes observadas.

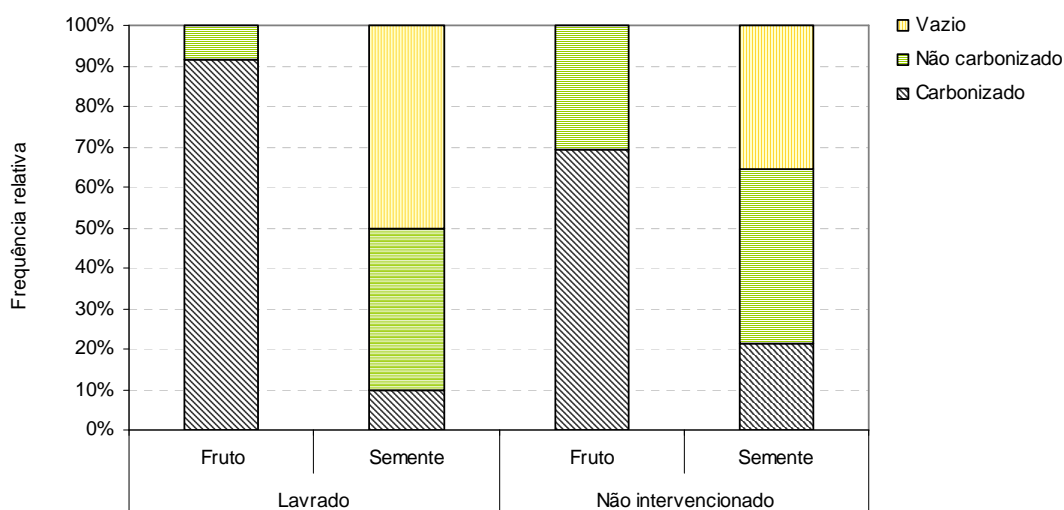


Figura 24 – Frequência relativa do número de frutos e sementes presentes nas amostras de solo nas modalidades *Lavrado* e *Não intervencionado* em diferentes estados de conservação (*Vazio*, *Não carbonizado* e *Carbonizado*).

Considerando apenas o número de sementes e frutos não carbonizados nem vazios, observou-se um número reduzido de ocorrências na modalidade *Lavrado*, comparativamente à modalidade *Não intervencionado* (Fig. 25). A realização do teste de *Mann-Whitney* revelou diferenças muito significativas no número total de frutos e sementes não carbonizadas nem vazias entre as duas modalidades ($Z=-2.34$, $n=18$, $p<0.05$). As sementes de eucalipto foram as que apresentaram maior abundância em ambas as modalidades. Este resultado era esperado, uma vez que o fogo pode estimular a libertação de sementes desta espécie (Macedo & Sardinha, 1993). Apesar das sementes de pequenas dimensões (Ericaceae) poderem ser sub amostradas pelo método de observação directa (Sutherland, 1996), estas foram encontradas com abundância relativamente elevada, podendo ser um indicador da sua persistência no banco de sementes.

É de salientar que foram também encontradas sementes de espécies pertencentes à família Leguminosae, ainda que em número reduzido (3 sementes no total de amostras observadas), que não foram consideradas na análise por se encontrarem vazias.

Os resultados obtidos mostram elevada presença de sementes e frutos de Ericaceae no banco de sementes e baixa densidade desta família na composição florística após o incêndio. Observou-se o contrário para *Ulex* sp. que, embora em relação às outras espécies apresente valores de ocorrência elevados na cobertura vegetal, apresenta valores muito baixos de ocorrência no banco de sementes por contagem directa. Este resultado pode ser explicado por vários factores, de entre os quais se salienta a elevada persistência das sementes pequenas de Ericaceae no banco de sementes, que pode estar associada à sua forma (Ne'eman & Izahaki, 1999).

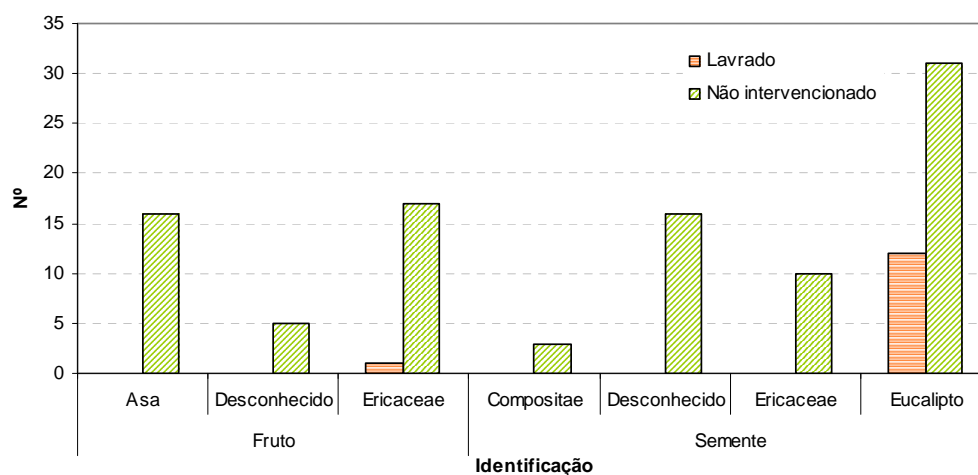


Figura 25 – Estimativa do número total de ocorrências das diferentes espécies nas amostras referente às duas modalidades consideradas (*Lavrado* e *Não intervencionado*).

Note-se que os dados não foram analisados ao nível da *Cota* pois o número de amostras de que dispomos não nos permite compreender se existem diferenças na composição do banco de sementes entre os pontos de uma encosta, para tal poderá ser necessário um número muito mais elevado de amostras.

Através da figura 26, verificou-se que a porção de amostra observada não foi semelhante para todas as amostras, variando entre 20 e c. de 90%. No entanto, no que respeita às amostras da modalidade *Não intervencionado*, a quantidade de solo observado (peso) foi limitado em amostras em que se observou um elevado número de ocorrências de sementes e/ou frutos.

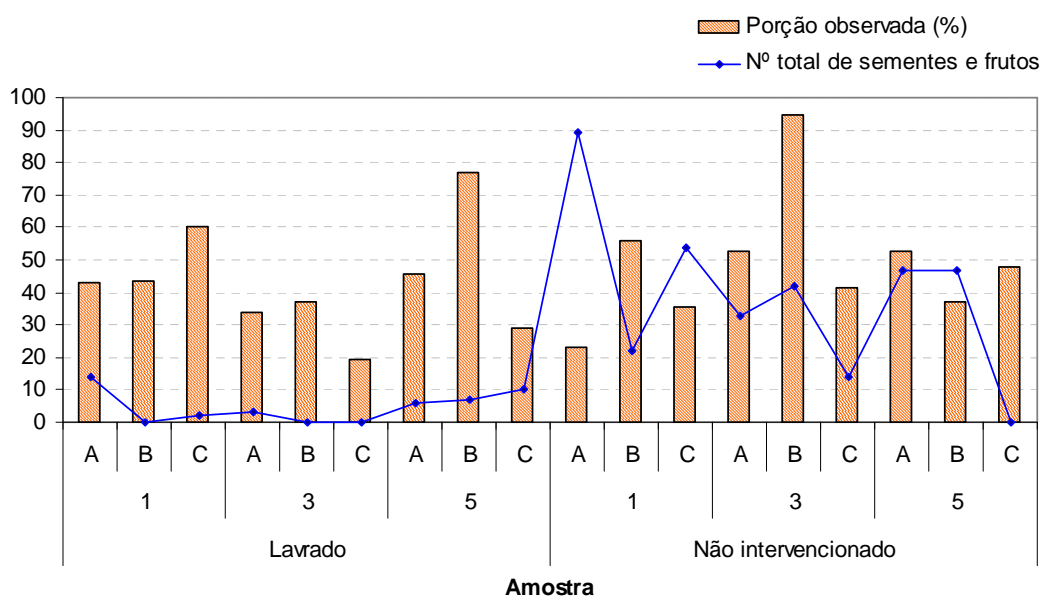


Figura 26 – Porção de amostra observada em relação ao total e número total de sementes e frutos observados para as várias amostras de solo das modalidades *Lavrado* e *Não intervencionado* das 3 Cotas consideradas (1,3 e 5).

Através da observação da figura 27 observou-se que grande parte das sementes e frutos encontrados foi registada na porção de cinzas das amostras, podendo representar uma percentagem de entre cerca de 5 e 100% do número de sementes e frutos observados. Apesar da variabilidade observada, este resultado revela a importância das sementes nesta fracção da amostra, tal como foi observado noutros estudos (Eshel *et al.*, 2000).

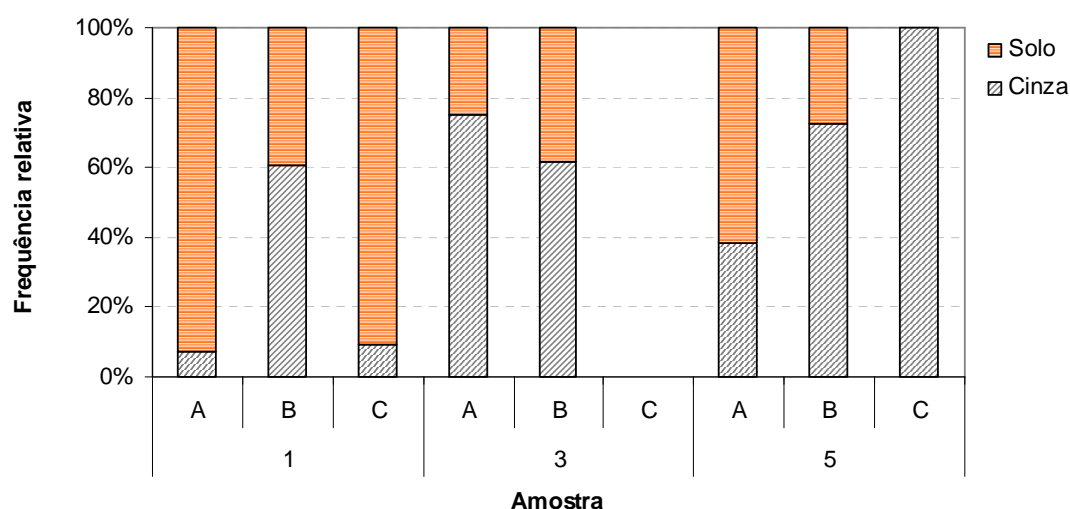


Figura 27 – Frequência relativa do número de sementes e frutos não carbonizados ou vazios encontradas nas fracções de cinzas e solo das várias amostras.

Embora se tenha considerado o número total de frutos e sementes, estimado para as amostras, em todas as análises realizadas até ao momento, considerou-se para a estimativa do número de sementes presentes, por metro quadrado, a 3 cm de profundidade, baseada no número de sementes não carbonizadas ou vazias estimadas para a área amostrada (28,27 cm²). Deste modo, obteve-se o valor máximo de 12025 sem.m⁻², tendo-se verificado, por outro lado, a ausência de sementes em algumas amostras, existindo elevada variabilidade entre as amostras (Tab. 3). O valor médio do total de sementes, não vazias ou carbonizadas, encontradas nas 9 amostras da modalidade *Não intervencionado* foi 4637±4650 sem. m⁻².

Este método permite aceder à totalidade de sementes presentes no solo, incluindo as sementes dormentes, viáveis e inviáveis. No entanto, a dificuldade em aceder à viabilidade das sementes através da observação das mesmas, faz com que este seja um método que sobrevaloriza o número de sementes do banco de sementes. Por outro lado, o processo de contagem directa das sementes pode ser bastante moroso e estar sujeito a erros, devido às dificuldades existentes na identificação das sementes.

Tabela 3 – Número total de sementes não carbonizadas ou vazias por m² a 3 cm de profundidade, estimado para cada uma das amostras observadas na fracção de solo da modalidade *Não intervencionado* e o valor médio e desvio-padrão para cada *Cota*. Os valores apresentados foram arredondados à unidade.

Amostra	Cota 1	Cota 3	Cota 5
A	9196	2829	5659
B	2476	9549	0
C	12025	0	0
Média ±s	7899 ±4904,85	4126 ±4904,85	1886 ±3267,22

4.2.3. Análise indirecta por germinação

As espécies encontradas na germinação foram semelhantes às encontradas no campo e surgiram na mesma altura. Após cerca de 4 meses decorridos desde o início do ensaio de germinação, não foi possível identificar as plantas germinadas uma vez que estas ainda se encontravam pouco desenvolvidas (Fig.28). Deste modo, será necessário continuar esta experiência com vista a analisar este método de forma mais completa (Benoit & Kenkel, 1989).

De forma a distinguir as diferentes plântulas, estas foram denominadas Espécie 1, Espécie 2, Espécie 3 e Espécie 4 (Fig.29) de acordo com as características morfológicas que apresentaram. As designações das espécies representam assim apenas o tipo a que correspondem, baseado em características morfológicas.

O número médio de emergências registado foi reduzido para todas as espécies, tendo sido a Espécie 1 a que apresentou o valor máximo de abundância, com elevado desvio-padrão (Fig.28). As espécies 2 e 3 não se encontram representadas na figura 28 porque o seu valor médio de ocorrência foi muito próximo de zero.

Através da realização do teste de *Mann-Whitney* observou-se que as diferenças entre as duas modalidades não foram estatisticamente significativas ($Z=-0.96$, $n=60$, $n.s.$). Este resultado pode dever-se ao reduzido número de emergências registado até ao momento.

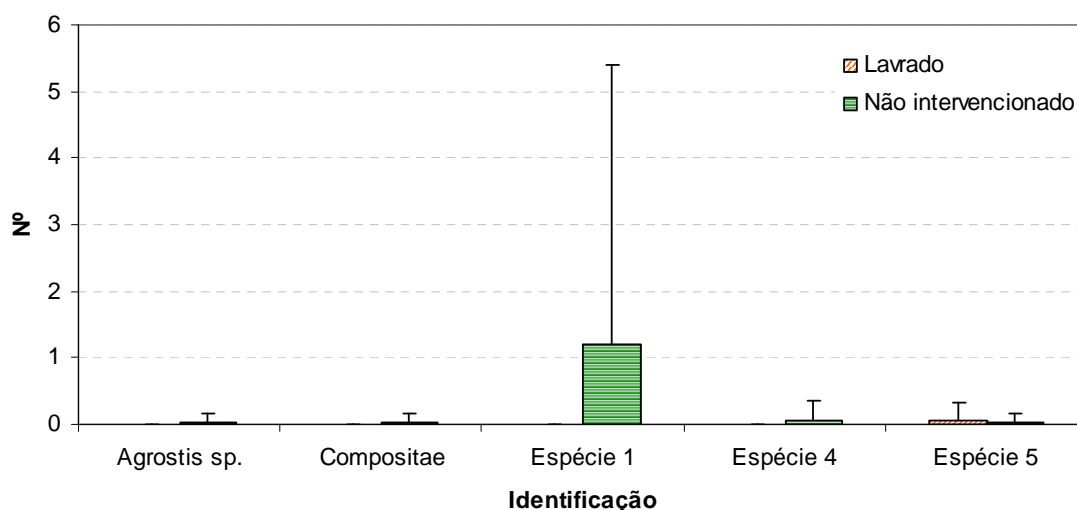


Figura 28 – Número médio e desvio-padrão de emergências verificadas nas amostras de solo colocadas a germinar entre 16.07.2008 e 6.11.2008. nas duas modalidades (*Lavrado* e *Não intervencionado*).

Foi detectada uma contaminação por *Conyza* Less. sp. (Fig. 30) nas amostras de Controlo pelo que todas as emergências identificadas como espécies deste género foram subtraídas aos resultados. No entanto, e para minimizar os erros de exclusão de exemplares provenientes de sementes trazidas do campo, seria recomendável que se colocasse um número de amostras de Controlo semelhante o número de amostras do campo de forma a poder estimar com maior precisão a verdadeira extensão da contaminação.

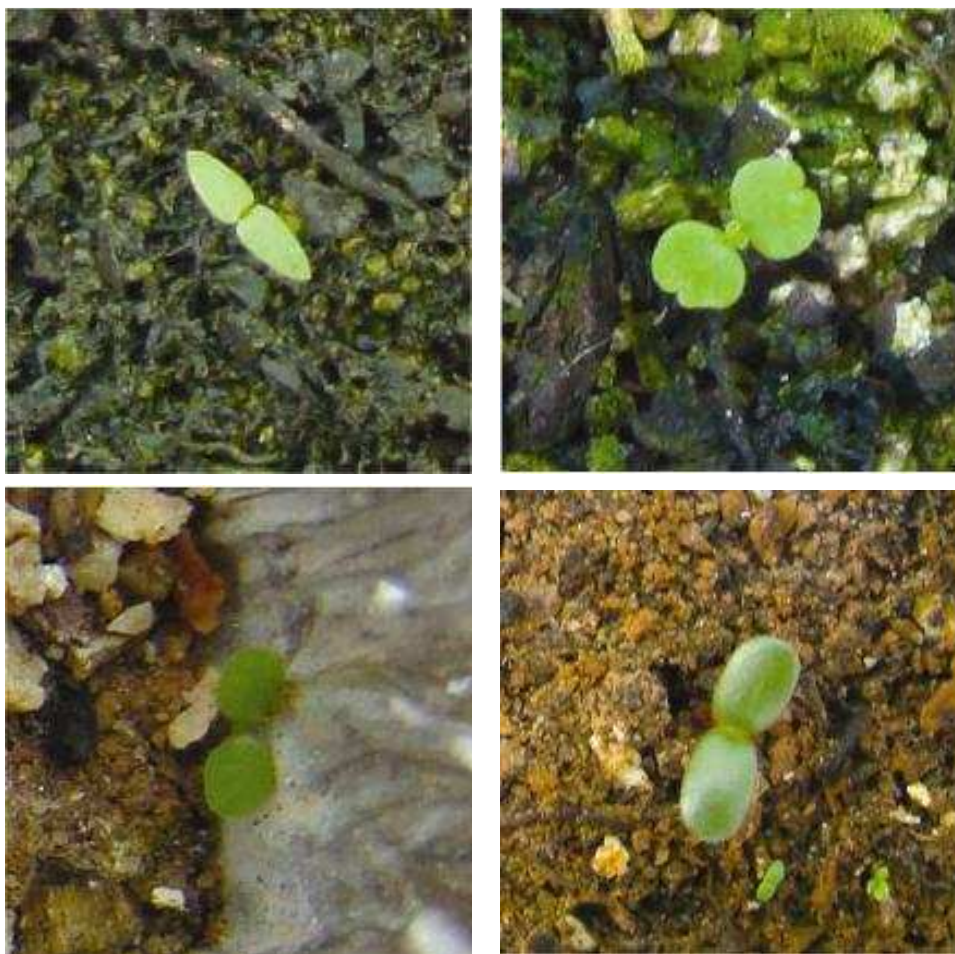


Figura 29 – Fotografias das plantas consideradas na análise designadas como Espécie 1, Espécie 2, Espécie 3, Espécie 4 (da esquerda para a direita e de cima para baixo).



Figura 30 – Fotografia de *Conyza Less. sp.*

A figura 31 ilustra uma elevada variabilidade no número de emergências entre as amostras, não sendo possível concluir, com a utilização deste método, acerca da contribuição da porção de cinzas e de solo para o banco de sementes.

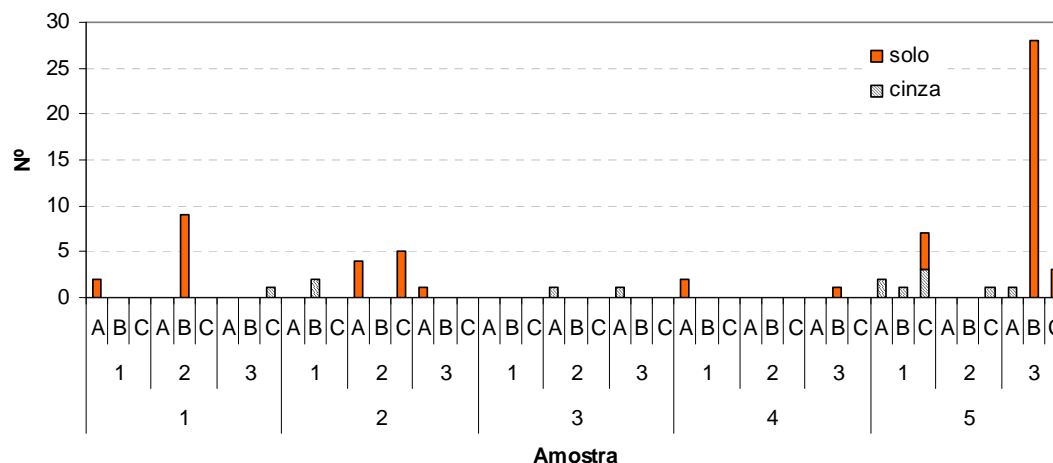


Figura 31 – Número total de emergências das fracções de solo e cinza nas amostras modalidade *Não intervencionado*.

Após a realização do teste de *Mann-Whitney* para comparação do número de sementes estimado pelos métodos directo e indirecto, nas amostras observadas, obtiveram-se diferenças altamente significativas na modalidade *Não intervencionado* ($Z=-3.73$, $n=36$, $p<0.001$). Na modalidade *Lavrado*, as diferenças observadas entre os resultados obtidos através dos dois métodos não foram estatisticamente significativas ($Z=-0.88$, $n=18$, $n.s.$). O valor médio de emergências na modalidade *Não intervencionado* permitiu estimar o valor de $927 \pm 3134 \text{ sem.m}^{-2}$ a 3 cm de profundidade, que foi muito inferior ao valor obtido através do método de observação directa.

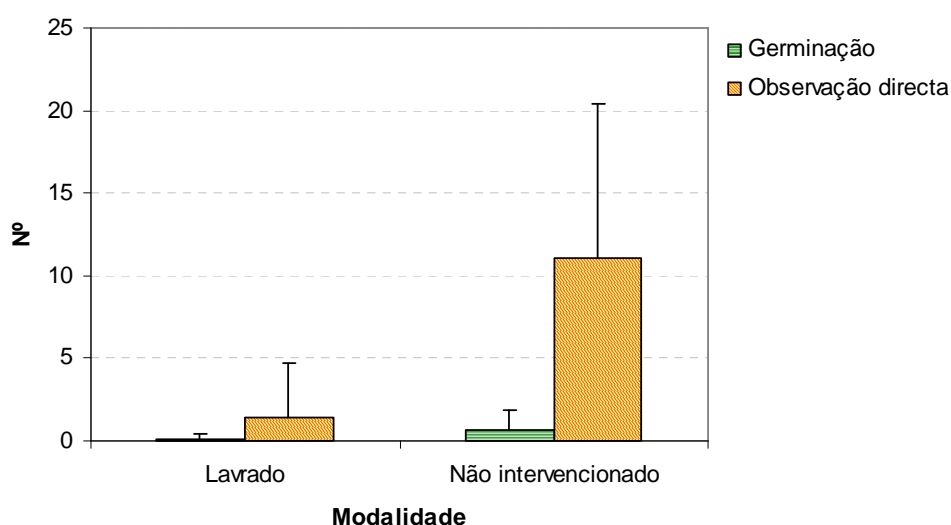


Figura 32 – Média e desvio-padrão do número de sementes viáveis estimado nas modalidades *Lavrado* e *Não intervencionado* através do método de germinação e do método de observação directa nas amostras das *Cotas* 1, 3 e 5. A modalidade *Não intervencionado* inclui as amostras de cinzas.

De forma resumida, os inconvenientes detectados na utilização deste método estiveram fundamentalmente relacionados com o tempo necessário para identificação das plantas após germinação, com a possibilidade de contaminação das amostras por sementes de outras proveniências e com o espaço necessário num local apropriado à realização da experiência.

Comparando os resultados obtidos com estudos realizados por outros autores, em solos de ocupação florestal e incultos (Tab.4), observa-se que tanto os valores obtidos através do método de observação directa como do método de germinação no presente estudo mostram uma densidade de sementes relativamente baixa comparativamente aos valores obtidos nos estudos de Díaz-Villa *et al.* (2003) e de Mitchell *et al.* (1998). No entanto, estes estudos referem-se a áreas não ardidas, enquanto o presente estudo foi realizado numa área ardida, o que pode ter um efeito de redução da densidade de sementes viáveis, conforme se pode observar no estudo de Valbuena & Trabaud (1995), realizado numa floresta de *Quercus pyrenaica* Willd.

Por outro lado, os valores de sementes por metro quadrado obtidos no estudo de Valbuena & Trabaud (2001) numa área de incultos ardida foram um pouco

superiores aos obtidos no presente estudo, mas no primeiro estudo a duração do período de germinação foi muito superior à do presente estudo (17 meses). Os resultados obtidos no presente estudo através do método de germinação enquadram-se nos resultados obtidos por Ne'eman & Izhaki (1999) para um pinhal, cuja duração da experiência de germinação foi semelhante (4 meses).

Note-se ainda que o presente estudo foi, dos estudos analisados, o único em que se utilizou o método de observação directa, de modo complementar ao método indirecto.

Tabela 4 – Número de sementes por metro quadrado (sem.m⁻²) em solos de ocupação florestal e incultos, obtido através de várias metodologias, segundo diferentes autores.

Referência (autor(es), ano)	País	Área ardida	Principal ocupação do solo	Tipo de amostra		Metodologia de avaliação		Nº de sem. m ⁻²
				Área (cm ²)	Profundidade (cm)	Método	Duração da experiência (meses)	
Presente estudo	Portugal	sim	eucaliptal	28,27	3 (s/manta morta)	Obs.directa	-	4637
						Germinação	4	927
Díaz-Villa <i>et al.</i> , 2003	Espanha	não	<i>Quercus</i> spp.	50,27	4	Germinação*	16	11240-14125
Eshel <i>et al.</i> , 2000	Israel	sim	pinhal	100	5 (s/manta morta)	Germinação	4	várias centenas
Mitchell <i>et al.</i> , 1998	Inglaterra	não	inculto	39	6,3	Germinação	15	<i>Calluna vulgaris</i> : 2000-28000
								<i>Erica</i> spp.: 100- 8000
								Outras: <800
Ne'eman & Izhaki, 1999	Israel	sim	pinhal	625	5	Germinação*	4	300-1300
Valbuena & Trabaud, 1995	Espanha	sim	<i>Quercus pyrenaica</i> Willd	500	5 (s/manta morta)	Germinação	17	650
		não						1040
Valbuena & Trabaud, 2001	Espanha	sim	incultos	500	5	Germinação	17	1802
		não						1050

*Com tratamento para estimular a interrupção da dormência das sementes

5. Conclusões gerais

O presente estudo teve como principal objectivo a avaliação de técnicas para o estudo da composição e viabilidade de bancos de sementes, estando dividido em duas partes fundamentais, um estudo piloto e um estudo comparativo entre duas áreas com diferentes tipos de intervenção após o fogo, uma lavrada e uma não intervencionada.

No estudo piloto pretendeu-se avaliar várias metodologias, no campo e laboratório, para a análise do banco de sementes, procurando identificar a densidade de sementes e a variabilidade em profundidade e ao longo de uma encosta.

Procurou-se igualmente criar uma pequena base de referência de sementes das espécies presentes em áreas próximas à área de estudo, com base numa pesquisa bibliográfica e na recolha de sementes no campo. Para tal, procurou-se caracterizar a morfologia e ecologia das sementes de espécies comuns em povoamentos de eucaliptal da região centro-norte de Portugal (Maia, 2006). Observou-se que as nove espécies seleccionadas, através da análise da composição florística de eucaliptais ardidos na região centro-norte do País, foram as principais espécies que se encontraram na composição florística da área de estudo. No entanto, observou-se que embora a caracterização morfológica das sementes das espécies seleccionadas tivesse sido muito útil no reconhecimento e separação das sementes do sedimento, esta apenas permitiu a classificação das sementes encontradas em famílias, dada as semelhanças entre as espécies pertencentes à mesma família e o aspecto deteriorado das sementes encontradas.

De entre os amostradores testados, o core revelou-se o amostrador mais adequado. Após avaliação de amostras recolhidas a várias profundidades, optou-se pela recolha das amostras a uma profundidade de até 3 cm, uma vez que a camada superficial (0-2 cm) foi a que apresentou um maior número de sementes. Esta camada apresentou também uma elevada variabilidade, o que levou à separação da camada de manta-morta ou cinzas. Este procedimento foi adoptado pois considerou-se que esta camada poderia consistir uma fonte de variabilidade

devido às diferentes intensidades do fogo com que foi afectada e à entrada de sementes.

O método de crivagem das amostras de solo revelou-se eficaz na concentração das sementes presentes nas amostras de solo e na homogeneização das amostras. Por outro lado o método de flutuação foi excluído da análise, pois revelou-se pouco preciso, podendo dar origem a perdas de material.

No estudo comparativo pretendeu-se realizar a avaliação de diferentes metodologias na análise do banco de sementes de duas áreas com distintos tipos de intervenção após o fogo. Deste modo, analisaram-se as vantagens e desvantagens da utilização dos métodos de avaliação por contagem directa das sementes presentes no solo e de germinação na comparação das duas áreas.

De forma a complementar os resultados obtidos, realizou-se também o seguimento da composição florística nos locais estudados. Observou-se que 7 das 8 espécies observadas coincidiram com as 9 espécies seleccionadas no estudo piloto. O teste de *Mann-Whitney* para comparação das modalidades *Lavrado* e *Não intervencionado* revelou diferenças significativas para as três datas de amostragem, tendo revelado diferenças muito significativas na primeira data ($Z=3.14$, $n=20$, $p<0.01$) e significativas nas duas últimas ($Z=-2.36$, $n=20$, $p<0.05$). Este resultado deve-se provavelmente à diminuição da abundância de fetos ao longo do tempo, uma vez que na primeira amostragem a modalidade *Lavrado* apresentava apenas fetos (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) na sua composição florística, cuja abundância diminuiu, aumentando as diferenças entre as duas modalidades.

Através do método de observação directa, verificou-se que apenas cerca de 40% das sementes observadas se encontrava num estado *Não carbonizado* (nem *Vazio*), sendo que destas muitas poderão não se encontrar viáveis. Nas amostras observadas encontraram-se sementes pertencentes às famílias Ericaceae, Compositae e Leguminosae e também sementes de eucalipto e desconhecidas. A realização do teste de *Mann-Whitney* revelou diferenças muito significativas no número total de frutos e sementes não carbonizadas nem vazias entre as duas modalidades ($Z=-2.34$, $n=18$, $p<0.05$). Observaram-se em média

4637±4650 sem.m⁻² não carbonizadas ou vazias através do método de observação directa, tendo-se observado elevada variabilidade entre as amostras.

No método de germinação, o tempo decorrido desde o início da germinação das plantas até à sua identificação foi muito reduzido para que se pudessem identificar as espécies da maioria das plântulas observadas, tendo sido divididas em 5 espécies distintas, de acordo com as suas características morfológicas. Além disso encontraram-se plantas de *Agrostis* sp. e da família Compositae. Neste método verificou-se uma contaminação das caixas de Controlo, que também pode ser considerada uma desvantagem associada ao método. Por outro lado as diferenças observadas entre as duas modalidades não foram significativas através da realização deste método ($Z=-0.96$, $n=60$, *n.s.*).

Após a realização do teste de *Mann-Whitney* para comparação do número de sementes estimado pelos métodos directo e indirecto para as amostras observadas, obtiveram-se diferenças altamente significativas para a modalidade *Não intervencionado* ($Z=-3.73$, $n=36$, $p<0.001$). Para a modalidade *Lavrado*, as diferenças observadas entre os resultados obtidos através dos dois métodos não foram estatisticamente significativas ($Z=-0.88$, $n=18$, *n.s.*). O valor médio de emergências na modalidade *Não intervencionado* permitiu estimar o valor de 927±3134 sem.m⁻² a 3 cm de profundidade, que foi bastante inferior ao valor obtido através do método de observação directa.

Comparando os resultados obtidos com estudos realizados por outros autores, em solos de ocupação florestal e incultos, observou-se que tanto os valores obtidos através do método de observação directa como do método de germinação no presente estudo mostram uma densidade de sementes relativamente baixa comparativamente ao obtido nos estudos de Díaz-Villa *et al.*(2003) e de Mitchell *et al.* (1998). No entanto, estes estudos referem-se a áreas não ardidas, enquanto o presente estudo foi realizado numa área ardida, o que pode ter um efeito de redução da densidade de sementes viáveis, conforme se pode observar para o estudo de Valbuena & Trabaud (1995), realizado numa floresta de *Quercus pyrenaica* Willd. Por outro lado, os valores de sementes por metro quadrado obtidos no estudo de Valbuena & Trabaud (2001) numa área de incultos ardida foram um pouco superiores aos obtidos no presente estudo, mas no primeiro estudo a duração do período de germinação foi muito superior à do

presente estudo (17 meses). Os resultados obtidos no presente estudo através do método de germinação enquadraram-se nos resultados obtidos por Ne'eman & Izhaki (1999) para um pinhal, cuja duração da experiência de germinação foi semelhante (4 meses). Note-se ainda que o presente estudo foi o único dos estudos analisados, em que se utilizou o método de observação directa, de modo complementar ao método indirecto.

Deste modo, os métodos directo e indirecto revelaram resultados distintos na comparação dos dois locais com diferentes tipos de intervenção pós fogo, o que reforça a ideia que devem ser utilizados os dois métodos como complementares na avaliação do banco de sementes, uma vez que qualquer um destes métodos isoladamente não permite avaliar de forma precisa a composição do banco de sementes.

O método de observação directa permitiu observar diferenças no conteúdo das sementes entre as duas modalidades mas o método de germinação, associado a este, permite analisar o número de sementes viáveis que germinam, contribuindo efectivamente para a recuperação do solo ardido.

Ambos os métodos mostraram vantagens e desvantagens, salientando-se a morosidade na contagem e incerteza da viabilidade das sementes, no método directo e a necessidade de espaço e de uma prolongada duração da experiência de germinação para identificação das plântulas emergentes, no método indirecto.

Consequentemente, e de forma a otimizar a utilização de ambos os métodos, deverão realizar-se por um lado, testes que permitam averiguar a viabilidade das sementes observadas e por outro, seleccionar tratamentos que acelerem a germinação das sementes presentes nas amostras analisadas pelo método indirecto, interrompendo a dormência (Baeza & Vallejo, 2005).

É de salientar que este estudo se encontra ainda em curso sendo necessário um período de tempo mais alargado para que se possam avaliar as metodologias descritas de forma mais conclusiva.

Referências

- BAEZA, M. & VALLEJO, R. 2006. Ecological mechanisms involved in dormancy breakage in *Ulex parviflorus* seeds. *Plant Ecology*. v.183:191-205.
- BEKKER, R., BAKKER, J., GRANDIN, U., KALAMEES, R., MILBERG, P., POSCHLOD, P., THOMPSON, K. & WILLEMS, J. 2002. Seed size, shape and vertical distribution in the soil: indicators of seed longevity. *Functional Ecology*. v.12 (5): 834-842.
- BENOIT, D., KENKEL, N. & CAVERS, P. 1989. Factors influencing the precision of soil seed bank estimates. *Canadian Journal of Botany*. v.67 (10):2833-2840.
- BERNARDES, G. 2008. *A certificação florestal face à conservação do solo numa área recentemente ardida no Concelho de Sever do Vouga*. Relatório final de Estágio da Licenciatura em Engenharia dos Recursos Florestais. Escola Superior Agrária de Coimbra
- BONIS, A. & LEPART, J. 1994. Vertical structure of seed banks and the impact of depth of burial on recruitment in two temporary marshes. *Vegetatio*. v.112:127-139.
- BROWN, S. & VENABLE, D. 1986. Evolutionary ecology of seed bank annuals in temporally varying environments. *American Naturalist*. v.127:31-47.
- CARVALHO, P. & FAVORETTO, V. 1995. Impacto das reservas de sementes no solo sobre a dinâmica populacional das pastagens. *Informativo Abrates, Londrina*. v. 5(1):87-106.
- CHAMBERS, J. & MACMAHON, J. 1994. A Day in the life of a seed: movements and fates of seeds and their implications for natural and managed systems. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* V. 25:263:292.

- CHRISTOFFOLETI, P. & CAETANO, R. 1998. Soil Seed Banks. *Scientia Agricola*. V. 55:74-78.
- CLEMENTE, A., REGO, F. & CORREIA, O. 2007. Seed bank dynamics of two obligate seeders, *Cistus monspeliensis* and *Rosmarinus officinalis*, in relation to time since fire. *Plant Ecology*. v.190(2): 175-188.
- CSONTOS, P. & TAMÁS, J. 2003. Comparisons of soil seed bank classification systems. *Seed Science Research*. V.13: 101-111.
- DIAZ-VILLA, M., MARANÓN, T., ARROYO, J. & GARRIDO, B. 2003. Soil seed bank and floristic diversity in a forest-grassland mosaic in southern Spain, *Journal of Vegetation Science*. v.14:701-709.
- DELUIS, M., RAVENTÓS, J. & GONZÁLEZ-HIDALGO, J. 2005. Factors controlling seedling germination after fire in Mediterranean gorse shrublands. Implications for fire prescription. *Journal of Environmental Management*. v.76:159-166.
- ESHEL, A., HENIG-SEVER, N. & NEÉMAN, G. 2000. Spatial variation of seedling distribution in an east Mediterranean pine woodland at the beginning of post-fire succession. *Plant Ecology*. v.148:175-182.
- FAGÚNDEZ, J. & IZCD, J. 2004. Seed Morphology of *Calluna* SALISB (ERICACEAE). *Acta Botanica Malacitana*. v.29:215-220.
- FERRANDIS, P., HERRANZ, J. & MARTINEZ-SANCHEZ, J. 1999. Effect of fire on hard-coated Cistaceae seed banks and its influence on techniques for quantifying seed banks. *Plant Ecology*. v.144:103-114.

- GARWOOD, N. 1989. *Thopical soil seed banks: a review. Ecology of Soil Seed Banks*. Eds. LECK, V., PARKER & SIMPSON, R. Academic Press, San Diego, CA.pp 149-210.
- GOES, E., FERREIRINHA, M., GRAVATO, A. & CARNEIRO, A. 1967. *Cultura do eucalipto como espécie industrial*. Grafitécnica, Lisboa.
- GONZALEZ, G. 1982. *La guía de Incafo de los arboles y arbustos de la Península Ibérica*. Incafo S.A., Madrid. 3ª ed.
- GROSS, K. 1990. A comparison of methods for estimating seed numbers in the soil. *Journal of Ecology*. v. 78(4):1079-1093.
- HARPER, J., WILLIAMS, J. & SAGAR, G. 1965. The behaviour of seeds in soil: the heterogeneity of soil surfaces and its role in determining the establishment of plants from seed. *British Ecological Society*.
- HEERDT, G, VERWEIJ, G, BEKEER, R & BAKKER, J. 1996. An improved method for seed-bank analysis: seedling emergence after removing the soil by sieving. *Functional Ecology*. v. 10:144-151.
- HERRERA J. 1987. Biología reproductiva de algunas especies del matorral de Doñana. *Anales Jard. Bot. Madrid*. v.44 (2): 483-497.
- LECK, M., PARKER, T. & SIMPSON, R. 1989. *Ecology of Soil Seed Banks*. Academic Press, Inc., New York.
- LEGG, C., MALTBY, E. & PROCTOR, M. 1992. The ecology of severe moorland fire on the North York Moors: Seed distribution and seedling establishment of *Calluna vulgaris*. *Journal of Ecology*. v. 80(4):737-752.
- LOCA, M. & RIVAS-MARTINEZ S. 1987. *La Vegetación de España*. Colección Aula Abierta.

- LUZURIAGA, A., ESCUDERO, A., OLANO, J. & LOIDI, J. 2005. Regenerative role of seed banks following an intense soil disturbance. *Acta Oecologica*. v. 27:57-66.
- MACEDO, F. & SARDINHA, A. 1993. *Fogos florestais*. v.1. Publicações Ciência e Vida. 2ª ed.
- MAIA, P. 2006. *Avaliação dos efeitos do fogo sobre o coberto vegetal e a biodiversidade em áreas florestais dos concelhos de Águeda e Albergaria, do Distrito de Aveiro*. Relatório do Projecto de fim de curso. Departamento de Biologia. Universidade de Aveiro.
- MITCHELL, R., MARRS, R., & AULD, M. 1998. A comparative study of the seedbanks of heathland and successional habitats. *Journal of Ecology*. v.86:588-596.
- MOR, J. 1997. *Tipologia de la vegetació: anàlisi i caracterització*. EINES. Institut de Ciències de l'Educació de la Universitat de Lleida.
- NE'EMAN, G. & IZHAKI, I. 1999. The effect of stand age and microhabitat on soil seed banks in Mediterranean Aleppo pine forests after fire. *Plant Ecology*. v.144:115-125.
- PAULA & PAUSAS. 2008. Burning seeds: germinative response to heat treatments in relation to resprouting ability. *Journal of Ecology*. v. 96:543-552.
- PAUSAS, J., BRADSTOCK, D., KEITH, A., KEELEY, Y. 2004. Plant functional traits in relation to fire in crown-fire ecosystems. *Ecology*. v. 85(4): 1085-1100.

- PONS, T. 1989. Dormancy and germination of *Calluna vulgaris* (L.) Hull and *Erica tetralix* L. seeds. *Acta Oecologica*. v.10 (1):35-43.
- RABANAL, F. & CASAL, M. 1995. Effect of high temperatures and ash on germination of ten species from gorse shrubland. *Plant Ecology*. v.116 (2):123-131.
- RIVAS, M., REYES, O. & CASAL, M. 2006. Influence of heat and smoke treatments on the germination of six leguminous shrubby species. *International Journal of Wildland Fire*. V.15 (1):73-80.
- SEM, G. & ENRIGHT, N. 1996. The relationship between seed rain and the soil seed bank in a temperate rain forest stand near Huckland, New Zealand. *New Zealand Journal of Botany*. v.34:215-226.
- SILVA, J. 2007. *Guia de campo – as árvores e os arbustos de Portugal Continental*. Árvores e florestas de Portugal. Público, Comunicação Social S.A. e Fundação Luso Americana para o Desenvolvimento, Lisboa.
- SUTHERLAND, W. 1996, *Ecological Census Techniques, a handbook*. Cambridge Press, pp. 124-129. 2ª ed.
- THOMPSON, K., BAKKER, J. & BECKKER, R. 1997. *The Soil Seed Banks of North West Europe: Methodology, density and longevity*. Cambridge University Press.
- THOMPSON, K. & GRIME, J. 1979. Seasonal variation in the seed banks of herbaceous species in ten contrasting habitats. *Journal of Ecology*. v. 67:893-921.
- VALBUENA, L. & TRABAUD, L. 1995. Comparison between the soil seed banks of a burnt and an unburnt *Quercus pyrenaica* Willd. Forest. *Plant Ecology*. v.152:81-90.

VALBUENA, L. & TRABAUD, L. 2001. Contribution of the soil seed bank to post-fire recovery of a heathland. *Plant Ecology*. v.152:175-183.

VALLEJO, R & ALLOZA J. 2004. *Avances en el estudio de la Gestión del Monte Mediterráneo*. Fundación Centro de Estudios Ambientales del Mediterráneo, Valencia. pp.17-20.

SITES VISITADOS:

BIOREDE da Universidade de Aveiro in <http://www.biorede.pt/>.

FLORA DIGITAL DE PORTUGAL. Jardim Botânico da Universidade de Trás os Montes e Alto Douro in http://www.jb.utad.pt/pt/herbario/cons_reg.asp.

FLORA IBERICA - Plantas Vasculares de la Península Iberica e Islas Baleares. Real Jardín Botánico in <http://www.rjb.csic.es/floraibErica/>.

PLANO HIDROGRÁFICO DO RIO VOUGA. 2001. Relatório do Plano. in <http://www.ccdrc.pt/>.